

Ciências Biológicas

Biologia Celular

Maria Erivalda Farias de Aragão



Geografia



História



Educação Física



Química



Ciências Biológicas



Artes Plásticas



Computação



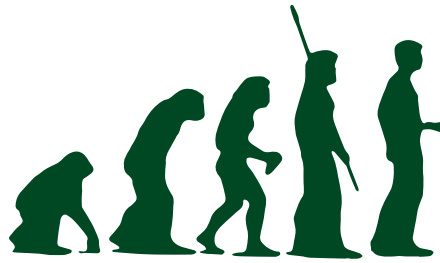
Física



Matemática



Pedagogia



Ciências Biológicas

Biologia Celular

Maria Erivalda Farias de Aragão

2ª edição
Fortaleza - Ceará



2015



Geografia



História



Educação
Física



Química



Ciências
Biológicas



Artes
Plásticas



Computação



Física



Matemática



Pedagogia

Copyright © 2015. Todos os direitos reservados desta edição à UAB/UECE. Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, dos autores.

Editora Filiada à



Presidenta da República

Dilma Vana Rousseff

Ministro da Educação

Renato Janine Ribeiro

Presidente da CAPES

Carlos Afonso Nobre

Diretor de Educação a Distância da CAPES

Jean Marc Georges Mutzig

Governador do Estado do Ceará

Camilo Sobreira de Santana

Reitor da Universidade Estadual do Ceará

José Jackson Coelho Sampaio

Vice-Reitor

Hidelbrando dos Santos Soares

Pró-Reitora de Graduação

Marcília Chagas Barreto

Coordenador da SATE e UAB/UECE

Francisco Fábio Castelo Branco

Coordenadora Adjunta UAB/UECE

Eloísa Maia Vidal

Direção do CCS/UECE

Gláucia Posso Lima

Coordenadora da Licenciatura em Ciências Biológicas

Germana Costa Paixão

Coordenadora de Tutoria e Docência em Ciências

Biológicas

Roselita Maria de Souza Mendes

Editor da EdUECE

Erasmus Miessa Ruiz

Coordenadora Editorial

Rocylânia Isídio de Oliveira

Projeto Gráfico e Capa

Roberto Santos

Diagramador

Marcus Lafaiete da Silva Melo

Revisora Ortográfica

Eleonora Figueiredo Correia Lucas de Morais

Conselho Editorial

Antônio Luciano Pontes

Eduardo Diatahy Bezerra de Menezes

Emanuel Ângelo da Rocha Frago

Francisco Horácio da Silva Frota

Francisco José Camelo Parente

Gisafran Nazareno Mota Jucá

José Ferreira Nunes

Liduina Farias Almeida da Costa

Lucili Grangeiro Cortez

Luiz Cruz Lima

Manfredo Ramos

Marcelo Gurgel Carlos da Silva

Marcony Silva Cunha

Maria do Socorro Ferreira Osterne

Maria Salette Bessa Jorge

Silvia Maria Nóbrega-Therrien

Conselho Consultivo

Antônio Torres Montenegro (UFPE)

Eliane P. Zamith Brito (FGV)

Homero Santiago (USP)

Ieda Maria Alves (USP)

Manuel Domingos Neto (UFF)

Maria do Socorro Silva Aragão (UFC)

Maria Lírida Callou de Araújo e Mendonça (UNIFOR)

Pierre Salama (Universidade de Paris VIII)

Romeu Gomes (FIOCRUZ)

Túlio Batista Franco (UFF)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Sistema de Bibliotecas

Biblioteca Central Prof. Antônio Martins Filho

Thelma Marylanda Silva de Melo – CRB-3 / 623

Bibliotecária

A659b Aragão, Maria Erivalda Farias de.
Biologia celular / Maria Erivalda Farias de Aragão. 2. ed.
Fortaleza : EdUECE, 2015.
178 p. ; il. (Ciências Biológicas)

ISBN: 978-85-7826-344-7

1. Biologia celular. I. Título.

CDD: 574

Editora da Universidade Estadual do Ceará – EdUECE
Av. Dr. Silas Munguba, 1700 – Campus do Itaperi – Reitoria – Fortaleza – Ceará
CEP: 60714-903 – Fone: (85) 3101-9893
Internet: www.uece.br – E-mail: eduece@uece.br
Secretaria de Apoio às Tecnologias Educacionais
Fone: (85) 3101-9962

Sumário

Apresentação.....	7
Capítulo 1 – Origem e evolução celular	9
1. Descobrimto da célula e a elaboração da Teoria Celular	11
2. Origem das células e evolução celular	12
2.1. Aparecimento das primeiras moléculas.....	13
2.2. Formação das macromoléculas	13
2.3. Surgimento das membranas biológicas	15
2.4. Surgimento das células eucarióticas.....	16
3. Evolução do processo de obtenção de energia pelas células	18
Capítulo 2 – Diferentes tipos de células.....	21
1. Bactérias.....	24
2. Archeobacterias	27
2.1. Membrana plasmática	28
2.2. Mitocôndria	28
2.3. Cloroplastos	29
2.4. Sistema de endomembranas.....	30
2.5. Núcleo	30
2.6. Citoesqueleto	31
2.7. Microcorpos.....	31
2.8. Ribossomos.....	32
2.9. Parede celular	32
2.10. Vacúolos	33
Capítulo 3 – Métodos de estudo em Biologia Celular.....	37
1. Microscópio ótico	40
1.1. Poder de resolução do microscópio	41
1.2. Microscopia de contraste de fase	41
1.3. Microscopia confocal	42
1.4. Microscópio de polarização	42
1.5. Microscópio de fluorescência	42
1.6. Marcos históricos do uso da microscopia ótica em células	43
2. Microscópio eletrônico de transmissão	44
3. Microscópio eletrônico de varredura	44
4. Preparação dos tecidos para visualização em microscópio	45
4.1. Fixação	45
4.2. Inclusão	46

4.3. Coloração	46
5. Fracionamento celular.....	47
6. Eletroforese	48
7. Métodos histoquímicos	49
8. Métodos imunológicos	49
8.1. Elisa	49
8.2. Imunoblotting	50
Capítulo 4 – Membranas biológicas	53
1. Visão geral da membrana plasmática	55
2. Lipídios que compõem as membranas	56
3. Proteínas membranares	58
3.1. Proteínas integrais de membranas	59
3.2. Proteínas periféricas	61
4. Carboidratos	61
5. Transporte através das membranas	61
5.1. Transporte passivo	62
5.2. Transporte ativo	62
Capítulo 5 – Citoesqueleto	67
1. Macrofilamentos	70
2. Centríolos e corpúsculos basais	72
3. Cílios e flagelos	73
4. Fuso mitótico	75
5. Microfilamentos	75
5.1. Funções dos microfilamentos	76
5.2. Proteínas motoras que se ligam à actina.....	77
6. Mecanismo de contração do músculo estriado esquelético.....	78
7. Filamentos intermediários.....	79
7.1. Montagem dos filamentos intermediários	80
Capítulo 6 – Estruturas de adesão celular	83
1. Proteínas de adesão celular (CAM).....	85
2. Zona de oclusão.....	86
3. Junção adesiva	87
4. Desmossomo	87
4.1. Hemidesmossomo	88
5. Junções em fenda.....	88
Capítulo 7 – Sistema de endomembranas	93
1. Componentes do sistema de endomembranas.....	95
2. Retículo endoplasmático granuloso	96
3. Síntese de proteínas no retículo endoplasmático granuloso	97
4. Retículo endoplasmático não granuloso	101
5. Complexo golgiense.....	102
6. Lisossomos	103
Capítulo 8 – Mitocôndrias.....	107
1. Características gerais das mitocôndrias	109
2. Morfologia.....	110

2.1. Membrana externa e espaço intermembranoso	110
2.2. Membrana interna e as cristas mitocondriais	110
2.3. Matriz mitocondrial	111
3. Síntese das proteínas mitocondriais	113
4. Divisão das mitocôndrias	113
5. Autofagia das mitocôndrias	114
6. Respiração	114
6.1. Glicólise	115
6.2. Complexo piruvato-desidrogenase	116
6.3. Ciclo de Krebs	116
6.4. Cadeia transportadora de elétrons	118
6.5. Síntese de ATP	120
Capítulo 9 – Cloroplastos	125
1. Características gerais dos cloroplastos	127
2. Morfologia	128
2.1. Envelope do cloroplasto (membranas externa e interna)	128
2.2. Tilacóides	128
3. Reações do claro	129
3.1. Aspectos gerais da luz visível	129
3.2. A luz e os pigmentos	130
3.3. Transmissão de energia por ressonância	130
3.4. Redução do NADP	131
3.5. Síntese de ATP	132
4. Reações do escuro	133
5. Algumas considerações adicionais sobre o estroma	134
6. Origem dos cloroplastos	135
Capítulo 10 – Ciclo celular	137
1. O núcleo celular interfásico	139
1.1. Envelope nuclear	140
1.2. Poro nuclear	140
1.3. Lâmina nuclear	140
1.4. Nucleoplasma	140
1.5. Cromatina	140
1.6. Nucléolo	142
2. Divisão celular – mitose	142
2.1. Interfase	142
2.2. Mitose	143
3. Controle do ciclo celular	146
3.1. Ciclinas	146
3.2. Quinases dependentes de ciclinas	147
3.3. Proto oncogenes	148
Capítulo 11 – Comunicação celular	151
1. Natureza dos sinais químicos	153
2. As células apresentam diferentes tipos de receptores	154
3. Diferentes tipos de comunicação	154

4. Receptores ligantes de proteína G.....	155
5. Recetores tirosina-quinase.....	157
6. Receptores guanilato-ciclase.....	158
Capítulo 12 – Diferenciação celular e apoptose	161
1. Histórico	163
2. Determinantes citoplasmáticos e diferenciação celular.....	164
3. Fatores de transcrição	165
4. Determinação	166
5. Indução e morfógenos.....	167
6. Células-tronco	168
7. Apoptose	170
7.1. Diferenças entre apoptose e necrose.....	170
7.2. Funções da apoptose	171
7.3. Caspases	173
7.4. Outras proteínas associadas à apoptose	173
7.5. Receptores da morte	174
7.6. Mecanismos de ativação da apoptose	174
Sobre a autora	178

Apresentação

O aluno de Biologia, ao ingressar na Universidade, se depara com várias disciplinas como Matemática, Química e Física que, diante da pouca vivência, e alta expectativa deixa-o desapontado. Biologia Celular está incluída no primeiro semestre na maioria das grades de licenciatura em Ciências Biológicas. Portanto, o aluno percebe essa disciplina como uma espécie de "oásis", ou seja, a porta de entrada para suas verdadeiras vocações.

Portanto, este livro foi desenvolvido como o objetivo de promover uma iniciação ao estudo da célula tendo com base a morfofisiologia de seus construtores e as relações da célula com o meio extracelular ou com as outras células que compoem o organismo como um todo,

O enfoque deste livro é também facilitar a compreensão de outras disciplinas, como Histologia e Fisiologia Vegetal e Animal. Normalmente os livros de Biologia Celular são bastante recheados de Bioquímica e de Biologia Celular, disciplinas que também fazem parte da grade dos cursos de Biologia.

Entendemos que o aprofundamento dos processos celulares, como a sinalização, diferenciação e apoptose do ponto de vista fisiológico se torna mais instigante para o aluno sem, no entanto, é claro, perder de vista as interações bioquímicas que os desencadeiam. Como se trata de um curso a distância, procuramos utilizar uma linguagem menos formal para que os alunos consigam construir um elo mais forte com as aspirações da autora.

A autora

Capítulo

1

Origem e evolução celular

Objetivos

- Obter noções básicas sobre a origem das primeiras células de acordo com as teorias evolutivas aceitas atualmente.
- Discutir as motivações que levaram os cientistas a elaborar a Teoria Celular.
- Compreender os processos de desenvolvimento que levaram ao aparecimento de uma célula eucariota a partir de células procariontas.

Introdução

A célula é a unidade morfofisiológica de todos os seres vivos. Mesmo os vírus e viroides (pedaços de RNA que infectam plantas) precisam de uma célula para se reproduzirem e se perpetuarem.

Imagine uma célula como um sofisticado laboratório, onde milhares de reações químicas ocorrem em cascata a cada instante. Simplesmente, pense na célula como uma fábrica, onde todos os processos se encontram intimamente relacionados e onde cada etapa depende daquela que a antecedeu.

Como numa fábrica, as células também são divididas em compartimentos (organelas) que desempenham funções específicas interligadas entre si. Como exemplo, podemos citar a síntese dos hormônios esteroides que resultam da ação integrada do retículo endoplasmático não granuloso com a mitocôndria. As células não trabalham isoladamente, mas em harmonia com as demais células que compõem o organismo inteiro, auxiliando e regulando, por meio de sinais químicos, o trabalho umas das outras.

1. Descobrimto da célula e a elaboração da Teoria Celular

Em 1665, Robert Hook, observando um pedaço de cortiça em um microscópio, identificou que a mesma era formada por várias lacunas, imitando uma colmeia de abelha. Ele chamou a essas cavidades de cela, de onde adveio a denominação de célula. Na verdade, o que Hook observou tratava-se apenas de paredes celulares provenientes de células vegetais mortas. Essa descoberta levou os cientistas a proporem que as plantas eram formadas por unidades e que estas seriam a base de sustentação de todo o organismo. No entanto, não havia ainda dados experimentais suficientes que acatassem

essa hipótese. Apenas em 1838, Mathias Scheideiden, botânico, afirmou categoricamente que todas as plantas eram constituídas de células, o que estimulou seu colega, o zoologista Theodor Schwann, a assegurar que todos os animais eram também formados por células.

Outra afirmação importante veio do biólogo Rudolf Virchow que, em 1858, concluiu que todas as células existentes se originam a partir de outras células.

A partir do brilhante trabalho desses cientistas, ficou estabelecida a Teoria Celular, de acordo com a qual todos os organismos são constituídos por células. Essa teoria nos diz também que todas as células existentes, nos mais variados organismos, tiveram sua origem a partir de uma única célula, o que significa que todas as criaturas que povoam o planeta terra possuem um ancestral comum.

2. Origem das células e evolução celular

Sabemos agora que todos os organismos surgem a partir de outro organismo e que todas as células são provenientes de uma outra célula. Mas de onde surgiu a primeira célula? Essa pergunta sempre instigou os mais antigos estudiosos e continua sendo um dos principais desafios da ciência moderna.

As células são constituídas por milhares de tipos diferentes de moléculas¹ dissolvidas no citosol e constituindo as organelas, sejam diluídas nos lúmens ou integradas às membranas destas. Além do mais, podemos perceber que algumas moléculas são somente encontradas nas células, não sendo deparada na matéria inanimada. Essas moléculas complexas são constituídas principalmente de carbono e são denominadas de macromoléculas.

As macromoléculas são polímeros formadas por blocos construtores (monômeros), que variam de acordo com o tipo de macromolécula. As principais macromoléculas encontradas nos organismos são as proteínas, os ácidos nucléicos e os polissacarídeos.

As proteínas são polímeros de aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas. Existem na natureza 20 aminoácidos diferentes que se combinam para formar uma diversidade de polipeptídeos.

Existem dois tipos de ácidos nucleicos: o DNA (ácido desoxiribonucleico) e o RNA (ácido ribonucleico), ambos formados por nucleotídeos que se ligam através de ligações fosfodiéster. Os nucleotídeos, por sua vez, são formados por um açúcar, a ribose no caso do RNA e a desoxirribose para os nucleotídeos que compõem o DNA, um grupamento fosfato e uma base nitrogenada. Existem dois tipos de bases: as purinas (adenina e guanina) e as pirimidinas (citosina, timina e uracila).

¹Uma molécula é a menor partícula de uma substância que pode existir de maneira independente.

Os carboidratos são poliidroxi aldeídos ou poliidroxi cetonas, possuindo normalmente entre 3 e 7 carbonos. Os mais conhecidos são a glicose, a manose, a frutose, a galactose, o gliceraldeído, a ribose e a desoxirribose. Estes monômeros podem ligar-se através de ligações glicosídicas, dando origem aos polissacarídeos.

2.1. Aparecimento das primeiras moléculas

De acordo com a hipótese de Aleksander I. Oparin e John Burdon S. Haldane, as primeiras moléculas² surgiram há aproximadamente quatro bilhões de anos, e as primeiras células somente apareceram um bilhão de anos mais tarde. Nessa época, a crosta terrestre e, principalmente, a atmosfera eram bastante diferentes do que temos hoje em dia. A pressão parcial de oxigênio era muito baixa, o que conferia à atmosfera um caráter bastante redutor e, portanto, propício às reações de síntese. A atmosfera era composta de amônia (NH_3), gás metano (CH_4), hidrogênio (H_2) e vapor d'água.

A crosta terrestre, inicialmente formada de magma, deu origem a rochas muito quentes e dessa forma as altas temperaturas funcionavam como catalisadores nas reações químicas que se iniciavam a partir dos compostos presentes na atmosfera. Além do mais, a Terra era constantemente bombardeada por raios que favoreciam ainda mais os meios reacionais na aurora da vida.

As moléculas que iam sendo sintetizadas eram arrastadas pelas chuvas e se acumulavam entre as rochas, formando mares de substâncias nutritivas, posteriormente denominadas de sopa pré-biótica.

A hipótese de Oparin e Haldane foi testada por vários grupos de pesquisa em locais e épocas diferentes, utilizando meios cada vez mais sofisticados, ou seja, mimetizando de forma mais autêntica o que seria o ambiente pré-biótico, e foram encontrados nesses experimentos produtos cada vez mais complexos favorecendo a hipótese.

2.2. Formação das macromoléculas

Dentre as milhares de substâncias que iam sendo sintetizadas, surgiram as macromoléculas formadas a partir de blocos construtores (aminoácidos, nucleotídeos, monossacarídeos), que começaram a se ligar por reações de desidratação. Essas reações recebem esse nome devido ao fato de que a ligação das duas moléculas ocorre com a liberação de uma molécula de água. Na Figura 1, temos o exemplo da formação de uma ligação peptídica, que liga os aminoácidos para formar as proteínas.

²Como começou tudo isso? Quais foram as forças que interagiram para agrupar estes elementos levando à formação das moléculas? Como as moléculas se agruparam para formar as macromoléculas? E ainda mais instigante, como estas macromoléculas criaram vida originando as células?

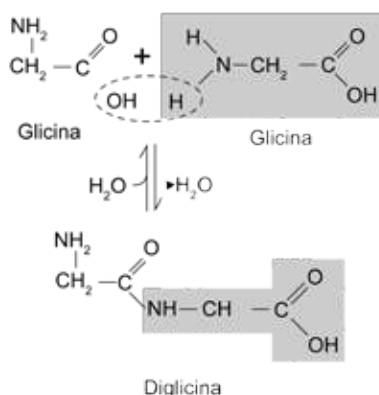


Figura 1 – Reação de desidratação entre dois aminoácidos para formar um dipeptídeo.

A grande maioria dessas macromoléculas não apresentava funções biológicas e se perdia na imensidão daquela sopa pré-biótica. Mas dentre elas começaram a surgir aquelas que apresentavam importantes funções, por exemplo, atividade enzimática.

a) Aparecimento do polímero primordial

De acordo com a teoria do polímero primordial, a vida surgiu no nível molecular quando dentre essas macromoléculas apareceu uma que possuía atividade autorreplicativa, ou seja, ela era capaz de formar uma cópia de si mesma, servindo, então, de molde para a nova molécula-filha. Além do mais, essa molécula possuía atividade enzimática, catalisando, assim, a sua própria replicação, sendo denominada polímero primordial.

Essa teoria afirma que o polímero primordial era um ácido ribonucléico (RNA). Essa conclusão deve-se ao fato de que o DNA apresenta propriedade replicativa, mas não tem atividade enzimática enquanto as proteínas têm atividade enzimática, mas não possui em atividade replicativa. Essa teoria foi reforçada com a descoberta das primeiras ribozimas (enzimas de RNA) e com o conhecimento de que o material genético de muitos vírus é constituído de RNA.

O RNA genômico começou a fazer cópias de DNA e, ao longo do processo evolutivo, foi o DNA que se mostrou, uma molécula mais apropriada para o armazenamento da informação genética, pois sua estrutura era menos reativa.

Ainda de acordo com a teoria do polímero primordial, o RNA começou a dirigir a síntese de proteínas, que, por sua vez, apresentava propriedades catalíticas e passaram a ter um importante papel na replicação do RNA. Com o processo evolutivo, as proteínas se aperfeiçoaram como catalisadores, sendo a grande maioria das enzimas atuais proteínas. Além de excelentes catalisadores, as proteínas acumularam uma diversidade enorme de outras funções.

Aos diferentes tipos de RNA que iam surgindo, foram confiadas outras funções, principalmente aquelas implicadas na biossíntese de proteínas.

2.3. Surgimento das membranas biológicas

De nada adiantaria o aparecimento de moléculas biologicamente ativas se não houvesse uma forma de aglomerá-las em um ambiente parcialmente fechado em que elas pudessem interagir e reproduzir. Portanto, outro grande parceiro no surgimento das primeiras células foi o aparecimento de moléculas lipídicas que apresentavam caráter anfipático³ (Figura 2).

Em contato com a água, essas moléculas formam duplas camadas, em que as porções hidrofóbicas interagem fugindo das moléculas polares de água e as porções hidrofílicas ficam expostas ao meio aquoso. Uma maneira de diminuir a tensão criada pela interação entre a porção hidrofóbica e a água é o dobramento dessa dupla membrana onde as porções laterais expostas possam interagir entre si formando assim uma vesícula denominada de lipossomo.

³As moléculas denominadas anfipáticas (*amphi* = *ambos*) possuem uma porção polar hidrofílica (afinidade pela água) ligada a uma grande porção hidrofóbica (fobia = medo, portanto parte lipídica sem afinidade pela água).

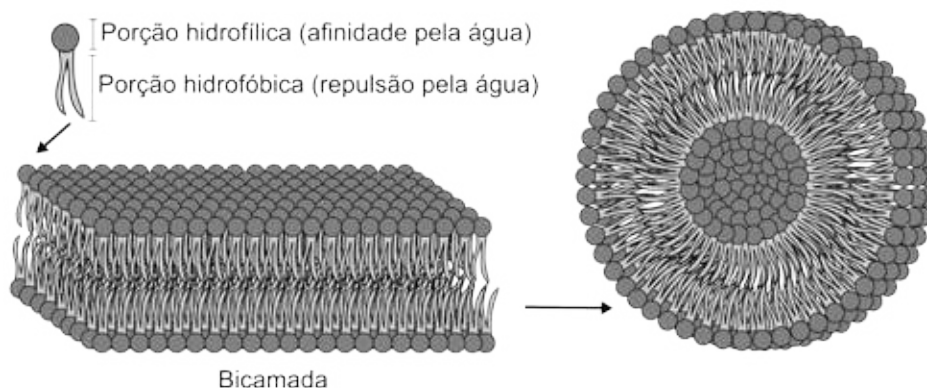


Figura 2 – Lipídio anfipático apresentando uma cabeça polar e duas caudas apolares. As interações hidrofóbicas das caudas favorecem a formação de bicamadas que, por sua vez, se dobram para formar os lipossomos.

Imaginemos agora que a formação de um lipossomo englobaria a parte aquosa da região onde a bicamada se formou e, portanto, teríamos uma vesícula em contato com o meio aquoso, tanto na parte interna como na parte externa. Dentro dessa vesícula, foram aprisionadas várias moléculas biologicamente ativas, inclusive o polímero primordial.

Essas moléculas começaram a dirigir suas próprias formações, assim como a síntese de novas moléculas cada vez mais diversificadas. Portanto, foram aparecendo proteínas com atividade de sustentação, atividade motora e proteínas com porções hidrofóbicas que se integrariam à bicamada lipídica. Algumas dessas proteínas desenvolveram atividade transportadora

⁴Homeostase (do grego *homeo* = similar e *statis* = estático) é capacidade de um sistema aberto como os seres vivos de se manterem estáveis, portanto, independente das variações externas, a célula mantém constante a sua composição, bem como a pressão osmótica, o pH e temperatura através de ajustes permanentes no seu equilíbrio.

começando, assim, um novo caminho no processo evolucionário: a troca de materiais entre o meio interno da vesícula e o grande ambiente aquoso adjacente rico em nutrientes. Dessa forma, essa célula primordial poderia obter matéria-prima a partir do ambiente e liberar os metabólitos resultantes das reações intracelulares.

Muitas das proteínas transportadoras evoluíram para a formação de bombas responsáveis pelo transporte ativo, começando então a formação de gradientes eletroquímicos entre o interior celular e o meio ambiente. Dessa forma, a célula foi aos poucos adquirindo uma identidade própria, conservando sua homeostase⁴, mas sempre mantendo um equilíbrio dinâmico com o meio externo.

2.4. Surgimento das células eucarióticas

As células eucarióticas resultaram de uma evolução positiva das células procarióticas. O primeiro passo nesse processo evolucionário de diferenciação consistiu na invaginação da membrana plasmática, que, à medida que adentrava o citossol da célula procariótica, sofria métodos de especializações, dando origem ao sistema de endomembranas.

Dessa forma, alguns segmentos dessa membrana originaram os retículos endoplasmáticos granuloso e não granuloso. Outros segmentos formaram os sáculos lameliformes, cujo conjunto deu origem ao complexo golgiense e por fim à formação do envelope nuclear, constituído por duas membranas que envolvem o material genético e consiste na principal característica dos eucariotas.

a) Hipótese endossimbiótica (origem das mitocôndrias e dos cloroplastos)

Mais tarde, outras diferenciações vieram aprimorar a evolução celular. Dentre estas, estão o aparecimento das mitocôndrias e o surgimento dos cloroplastos. Essas organelas, conhecidas como as casas de força da célula surgiram a partir da endocitose de células procarióticas, de acordo com a hipótese endossimbiótica (Figura 3).

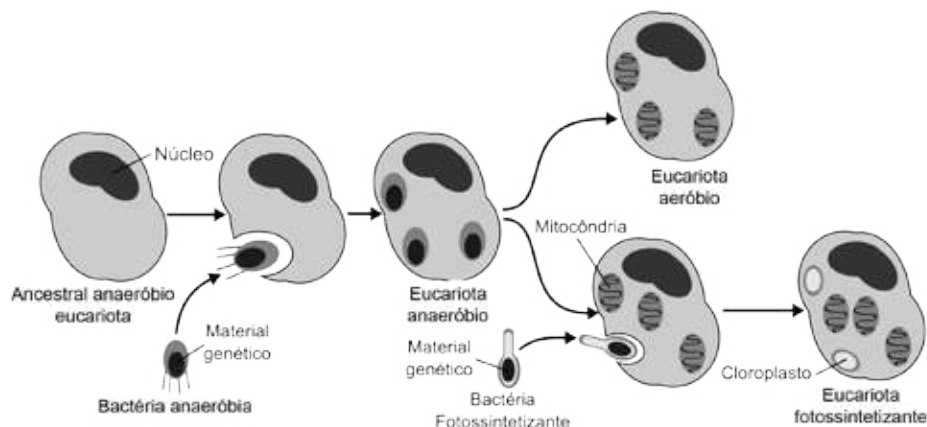


Figura 3 – Hipótese endossimbiótica para o surgimento das mitocôndrias e dos cloroplastos

Na atmosfera primitiva, o oxigênio era rarefeito e, portanto, as primeiras células eram anaeróbias. Dentre aqueles organismos procariotas, surgiram alguns capazes de produzir pigmentos e, assim, absorverem a luz visível proveniente do sol. Mais tardiamente, esses indivíduos desenvolveram a capacidade de **transduzir**⁵ essa energia luminosa (eletromagnética) em energia química, provavelmente na forma de ATP. Essa energia seria, então, utilizada para produzir compostos orgânicos complexos a partir de moléculas simples, como CO₂ e H₂O, sendo esse processo denominado de fotossíntese. Como um subproduto da fotossíntese, essas células começaram a liberar oxigênio para a atmosfera. Por outro lado, alguns organismos que não possuíam o poder de adquirir energia desenvolveram um mecanismo de utilização desse oxigênio para promover a degradação oxidativa de compostos orgânicos complexos e usavam a energia liberada pela oxidação para produzir ATP.

Uma célula eucariótica anaeróbica fagocitou uma célula procariótica aeróbica que, por mecanismos desconhecidos, conseguiu evitar a fusão do seu fagossomo com os lisossomos, permanecendo dentro da célula eucariótica, começando o desenvolvimento de um processo endossimbiótico, em que a célula eucariótica fornecia abrigo e nutrientes à célula procariótica, que, em contrapartida, desenvolvia dentro dessa célula a respiração aeróbica, fornecendo à célula hospedeira um rendimento energético bastante superior àquele da respiração anaeróbica. E assim surgia a primeira célula eucariótica aeróbica.

Ainda segundo a teoria endossimbiótica, uma célula eucariótica aeróbica teria fagocitado uma célula procariótica fotossintética e, de forma similar ao processo ocorrido com a célula anaeróbica, estabeleceu-se uma simbiose intracelular, tornando o procariota nos cloroplastos atuais.

⁵Transdução: é a transformação de um tipo de energia em outra.

3. Evolução do processo de obtenção de energia pelas células

Certamente as primeiras células eram heterotróficas, ou seja, elas dependiam totalmente do meio externo, tanto para a absorção de nutrientes como para a obtenção de energia para realizar suas atividades fundamentais. Essa energia seria obtida pelo processo de fermentação.

Com a descoberta das archeobactérias, muitas especulações vieram à tona, e muitos conceitos sobre a evolução celular foram rebuscados, principalmente no que diz respeito ao surgimento dos primeiros organismos autotróficos. Algumas dessas bactérias vivem nas fendas mais profundas do oceano, onde a concentração de enxofre é enorme. Elas oxidam o enxofre e utilizam a energia dessa oxidação para produzir suas moléculas orgânicas a partir de moléculas bem simples, como, por exemplo, elas formam metano a partir de CO_2 e H_2O .

Portanto, as evidências demonstram que as primeiras células autotróficas seriam quimiossintetizantes e somente depois surgiram as células autotróficas fotossintetizantes. Com o aumento da concentração de oxigênio na atmosfera liberado pelas células fotossintéticas, surgiram então as células heterotróficas aeróbias.

Síntese do Capítulo



A primeira célula surgiu a partir de um processo de seleção natural de moléculas que se formaram ao acaso durante o processo de evolução da Terra. Dentre as milhares moléculas formadas, aquelas combinações que apresentavam propriedades biológicas foram reunindo-se com o auxílio dos lipossomos que se formavam a partir de lipídios anfipáticos. Dentre essas macromoléculas formadas por blocos (aminoácidos, nucleotídios), surgiu um polímero com capacidade enzimática e autorreplicativa que direcionou o curso evolutivo da célula que se formou.

A primeira célula era heterotrófica, obtendo sua energia através da fermentação e se dividia por divisão binária. Depois surgiram as células quimiotróficas seguidas pelas fotossintetizantes e pelas aeróbias. Com o aparecimento das endomembranas, surgiu a primeira célula eucariótica, que era heterotrófica. Através de um processo de fagocitose de células procarióticas por células eucarióticas, surgiram as mitocôndrias e os cloroplastos.

Em meados do século XIX, foi formada a teoria celular que afirma que todos os organismos são constituídos por células e se originam da reprodução de outra célula eliminando de vez a hipótese da abiogênese.

Atividades de avaliação



1. Dentre as macromoléculas a seguir, indique aquela que mais provavelmente pode ter sido o polímero primordial. Justifique sua resposta.
 - a) Proteínas
 - b) Ácido desoxirribonucléico
 - c) Ácido ribonucléico
 - e) Fosfolípidos
2. Qual é a importância da natureza anfipática dos lipídios na formação das membranas?
3. Qual foi o marco na evolução celular que culminou com o aparecimento das células eucarióticas?
4. A abiogênese foi descartada definitivamente através dos experimentos de Pasteur. No entanto, de acordo com o que estudamos, a primeira célula surgiu de matéria inanimada. Em sua opinião, tratar-se-ia de uma abiogênese?
5. Quais diferenças entre o ambiente atual e a terra há três bilhões de anos que não permitiria o surgimento de células a partir de matéria inanimada hoje em dia?
6. Quais são as características das mitocôndrias e dos cloroplastos que corroboram com a hipótese endossimbiótica? Consulte os capítulos 8 e 9 para melhor responder esta questão.
7. Se nós evoluímos a partir de procariotas, você acha provável que atualmente existam células procarióticas evoluindo em direção às células eucarióticas?

Referências



- PURVES, W. et al. **Vida, a Ciência da Biologia**. 6a edição, Editora ArtMed, 2002.
- CAMPBELL, N. A., **Biology**. Second Edition, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, C.A, 1993.
- CURTIS, H. e BARNES, N. S., **Biology**. fifth edition, Worth Publishers, Inc., New York – USA, 1989.
- www.mundoeducacao.com.br/biologia/a-hipotese-oparin-haldane.htm – 15k – Acessado em 23/09/2008 às 8:30h.

Capítulo

2

Diferentes tipos de células

Objetivos

- Identificar as principais diferenças entre uma célula procariótica e eucariótica.
- Caracterizar as organelas que constituem uma célula eucariótica.
- Distinguir as peculiaridades que tornam a célula vegetal diferente da célula animal.

Introdução

O universo em que vivemos é altamente diversificado. Basta olharmos em volta para nos depararmos com uma imensidão de tipos diferentes de plantas ostentando suas belezas em forma de folhas, flores e frutos. O reino animal também nos chama atenção pela grande variedade de espécies e estilos de vida. Dessa forma, temos os répteis, as aves, os mamíferos, os organismos aquáticos, enfim, a natureza nos presenteia a cada dia com a descoberta de uma nova e exótica espécie.

O universo microscópico também não é diferente, principalmente no meio aquático, onde o homem descobriu uma universalidade de seres unicelulares que parecem não ter fim. As microalgas têm despertado cada vez mais interesses dos ficologistas devido à grande variedade de formas e às relações sociais que se desenvolvem entre elas (Figura 4).

Os protozoários são capazes de habitar os mais diferentes substratos, podendo ter vida livre como vários tipos de amebas, heliozoários, vorticelli ou então serem, pelo menos em determinadas etapas do seu ciclo de vida, intracelulares obrigatórios, como as formas amastigotas das leishmanias ou os merozoítas dos plasmódios.

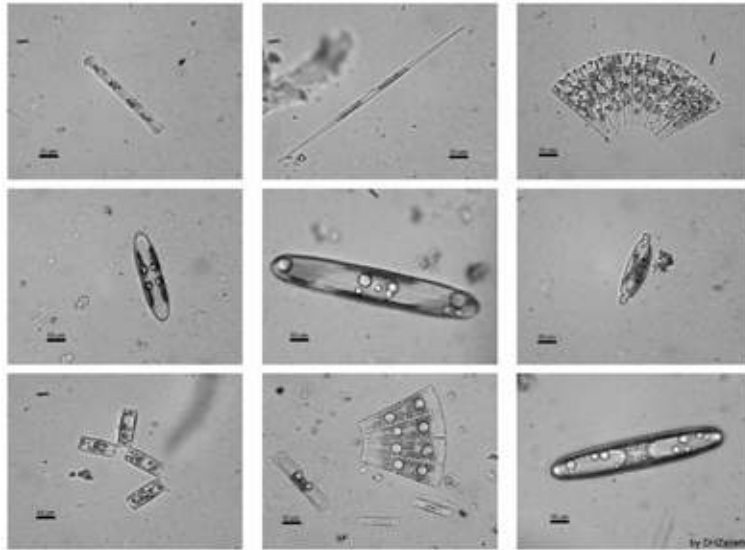


Figura 4 – Diferentes tipos de microalgas

De uma forma geral, todos os organismos, uni ou pluricelulares, estão divididos em três domínios; os domínios Bacteria e Archaea nos quais estão situados todos os procariotas (eubactérias e archeobactérias) e o domínio Eucarya em que estão localizados os eucariotas. A principal distinção entre as células procarióticas e eucarióticas é a presença de um envelope nuclear envolvendo o material genético das últimas. A denominação eucariota vem do grego, “eu” significa “verdadeiro” e “caryon” significa “núcleo”; portanto, eucariotas são os organismos cujas células apresentam um núcleo bem definido.

1. Bactérias

Embora desprovidas de um envoltório protegendo seu material genético, não devemos imaginar que as células procarióticas sejam simples. Ao contrário, esses pequenos seres unicelulares possuem intrincadas vias metabólicas e são capazes de viver e reproduzirem-se nos mais diferentes ambientes. Muitas delas têm interesse médico por causar doenças, levando a quadros patológicos bastante graves, sendo responsáveis por muitos óbitos. Por outro lado, temos também aquelas de interesse industrial utilizadas na fabricação de bebidas, como o vinho e a cerveja, ou de alimentos, principalmente nos derivados lácteos como o queijo e o iogurte. Os diversos produtos oriundos do metabolismo bacteriano são também de grande interesse em outros setores industriais, como a produção de metano, por exemplo.

As bactérias apresentam diferentes formas (Figura 5), tendo aquelas que se apresentam arredondadas, recebendo a denominação de cocos. Outras possuem uma forma mais alongada, sendo então classificadas como

bacilos ou bastonetes e ainda temos aquelas encurvadas que lembram uma vírgula, sendo chamadas de vibriões. As formas de cocos podem apresentar-se agrupadas de duas em duas, sendo chamadas de diplococos, ou vários cocos podem agrupar-se em fileiras formando os estreptococos ou ainda formando um arranjo similar a um cacho de uva, os estafilococos.

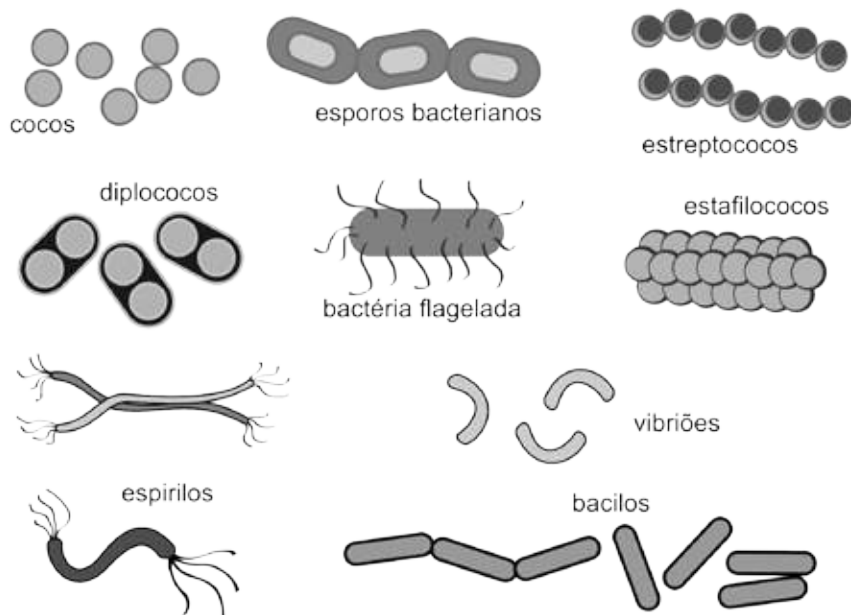


Figura 5 – Diferentes formas e associações das bactérias.

As bactérias são classificadas de acordo com o comportamento perante o método de coloração desenvolvido por Hans Christian Gram, em gram negativas e gram positivas. As bactérias gram positivas são aquelas que retem o corante violeta de gram, e as bactérias gram negativas perdem essa coloração quando são lavadas com álcool. Essa diferença deriva da constituição das paredes bacterianas. Nas bactérias gram positivas, a parede é formada por uma grande quantidade de peptidoglicanos (polissacarídeos formados por glicosaminoglicanos associados a polipeptídeos) na parte externa da membrana plasmática.

Existe uma outra membrana que envolve a parede e que possui vários canais denominados porinas. O espaço entre a parede e a membrana plasmática é denominado “espaço periplasmático”. No caso das bactérias gram negativas, a parede de glicosaminoglicanos é bem mais estreita, e a membrana externa possui uma grande quantidade de uma substância de natureza lipídica, o lipopolissacarídeo (LPS), que confere um grau de patogenicidade a essas bactérias.

Algumas bactérias secretam um muco que forma uma cápsula em torno delas e que em muitas é responsável pelo poder infeccioso.

Existem bactérias que possuem um ou mais flagelos. Essas estruturas são formadas principalmente por uma proteína chamada flagelina e são recobertas pela membrana plasmática da bactéria. Na base do flagelo existe uma estrutura similar a um rotor que se move utilizando a energia de um gradiente de próton gerado pela ação de uma bomba de prótons situada na membrana da bactéria. Na unidade 4 você entenderá a base para a formação destes gradientes.

As bactérias são caracterizadas não somente pela ausência do envelope nuclear, mas pela ausência quase total de organelas (Figura 6). Portanto, as bactérias possuem um DNA dupla fita que, diferentemente dos eucariotas, apresenta-se na forma circular, podendo existir mais de uma cópia desse material genético.

Esse DNA está agregado a proteínas que guardam alguma similaridade com as histonas da cromatina dos eucariotas e apresenta-se levemente condensado. Esse nucleóide assim formado encontra-se bem próximo a uma região da membrana plasmática da bactéria, como se estivesse associado a ela. No citosol encontramos vários ribossomos, responsável pela tradução desse material genético. Muitas vezes, antes mesmo de o RNA mensageiro ser completamente transcrito, já podemos ver ribossomos associados a ele sintetizando polipeptídeos.

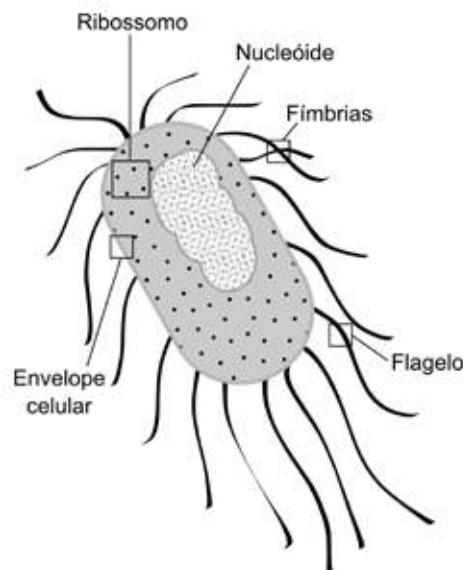


Figura 6 – Essa figura apresenta de forma esquemática as estruturas que compõem uma bactéria.

Algumas bactérias são aeróbias e não sobrevivem na ausência de oxigênio; outras crescem tanto na ausência como na presença de oxigênio, sendo denominadas anaeróbias facultativas e, por fim, existem aquelas bactérias que não conseguem sobreviver na presença de oxigênio, sendo anaeróbias obrigatórias.

As bactérias aeróbicas possuem em sua membrana plasmática uma cadeia transportadora de elétrons, bem como a enzima responsável pela síntese de ATP, a ATP-sintetase. Os componentes da cadeia transportadora de elétrons se concentram principalmente numa região da membrana que apresenta várias invaginações, sendo denominada de mesossomo. Acredita-se que os mesossomos estão também implicados na divisão bacteriana. As outras etapas da respiração (via glicolítica, ciclo do ácido cítrico) são realizadas no citosol.

Nas bactérias fotossintetizantes, os sistemas responsáveis pela absorção e para transdução da energia luminosa em energia química se encontram na membrana plasmática. Dessa forma, os pigmentos acessórios, os centros de reações e as cadeias transportadoras de elétrons são componentes da membrana plasmática. Como mencionado, para as células eucariotas, a ATP-sintetase também se encontra na membrana plasmática. Essas bactérias apresentam várias dobras na membrana que, vistas ao microscópio eletrônico, formam estruturas denominadas lamelas.

2. Archeobacterias

Essas bactérias conseguem sobreviver em ambientes altamente inóspitos como com alta concentração de sais (halofílicas), em temperaturas altamente elevadas (termófilas) e em limites de pH inviáveis para outros tipos de células (acidófilas). Elas não apresentam peptidoglicanos em sua parede e muitas são metanogênicas, ou seja, produzem metano no seu metabolismo. Essas bactérias também apresentam, em suas membranas, lipídios que não são encontrados em outros organismos. Esses lipídios são ricos em ligações éter, enquanto, nas membranas biológicas, são encontradas geralmente ligações do tipo éster.

Devido a essas características que a permitem às bactérias viver em ambientes que lembram a Terra primitiva veio à denominação “archaios,” que significa antigo e, portanto, elas seriam as células mais primitivas encontradas na atualidade. No entanto, através de análises de sequenciamento dos genomas das diferentes archeobactérias, eubactérias (bactérias verdadeiras) e eucariotas veio uma grande surpresa: essas células estão hierarquicamente mais próximas dos eucariotas do que as eubactérias.

Agora serão abordados os diferentes constituintes da célula eucariótica com o objetivo de se obter uma visão geral da forma harmônica como esses constituintes estão arranjados. Também será dada ênfase àquelas estruturas que estão presentes apenas nos vegetais e àquelas que são características das células animais.

2.1. Membrana plasmática

As membranas biológicas são formadas por uma bicamada lipídica, incrustadas de proteínas, de acordo com o modelo do mosaico-fluido.

Os lipídios de membrana têm natureza anfipática, ou seja, uma porção longa hidrofóbica, normalmente consistindo de ácidos graxos de cadeia longa e uma porção hidrofílica, que varia bastante de acordo com o tipo de lipídio.

Os lipídios mais abundantes das membranas se consistem dos fosfoglicerolipídios, mas encontramos também os esfingolipídios e os esteróis, sendo que estes últimos estão normalmente ausentes nas membranas dos procariontos. Em relação às proteínas, podemos distinguir dois tipos: as integrais e as periféricas. As proteínas integrais são aquelas que atravessam toda a extensão das membranas, ligando-se firmemente a estas e apresentam caráter bastante hidrofóbico.

As proteínas denominadas periféricas se encontram de um lado ou do outro da membrana, sendo bastante hidrofílicas. Estão normalmente associadas às membranas por interações eletrostáticas, mas podem ser encontradas também ligações covalentes com os lipídios das membranas. Algumas membranas, normalmente as membranas plasmáticas, possuem carboidratos em sua estrutura. Esses carboidratos se encontram ligados covalentemente às proteínas ou aos lipídios, formando as glicoproteínas e os glicolipídios. Quando a concentração de carboidratos é muito extensa, teremos a formação de um ambiente hidrofílico denominado glicocálice.

2.2. Mitocôndria

As mitocôndrias são consideradas as casas de força das células, pois, mesmo nos organismos fotossintéticos, a maior parte de ATP utilizada pela célula é produzida pela fosforilação oxidativa que ocorre nas cristas mitocondriais. Essas organelas possuem uma estrutura normalmente alongada, cuja extensão varia de 1 a 10 μm .

Possuem duas membranas: uma membrana externa, dita semipermeável, por apresentar canais (porinas) que permitem a passagem de substâncias de peso molecular inferior a 5000 daltons, e uma membrana interna, altamente impermeável a substâncias polares. Portanto, a membrana interna é composta de vários transportadores (proteínas transmembranares).

Na membrana interna, vamos encontrar também os componentes da cadeia transportadora de elétrons e a enzima responsável pela síntese de ATP, a ATPsintetase. A membrana interna apresenta várias invaginações, denominadas “cristas mitocondriais,” que aumentam consideravelmente a área dessa membrana. O espaço entre as duas membranas, denominado “espaço

intermembranoso,” é muito importante para a síntese de ATP, como veremos na unidade 10. Essas duas membranas envolvem um espaço aquoso denominado “matriz mitocondrial.”

Nessa matriz, encontraremos o genoma mitocondrial, uma molécula de DNA circular que pode existir em mais de uma cópia. Encontraremos também pequenos ribossomos e mRNA, bem como tRNA, e a maioria das enzimas responsáveis pelo ciclo de Krebs e as enzimas que participam da α e da β -oxidação dos ácidos graxos. Também nessa matriz ocorre parte do ciclo da ureia.

2.3. Cloroplastos

Os cloroplastos são organelas típicas das células vegetais, mas podem também ser encontrados em alguns protistas. Tais quais as mitocôndrias, essas organelas possuem um sistema de dupla membrana: a membrana externa, mais permeável, e a membrana interna bastante seletiva. No entanto, diferentemente das mitocôndrias, os cloroplastos possuem um terceiro sistema de endomembranas que formam os tilacoides.

Os tilacoides se encontram espalhados em um espaço aquoso denominado de estroma, sendo esse espaço circundado pelas membranas externa e interna. Os tilacoides aparentam uma forma de pilhas de sacos ou cisternas que foram denominadas de “granum” (cujo plural é grana), sendo essas pilhas interligadas por porções menos arredondadas. Esses tilacoides que formam os grana são denominados de granais, e aqueles que ligam um granum no outro, de intergranais.

Apesar dessa aparência exterior, o espaço interior é contínuo e foi denominado de “espaço intratilacoidal,” que, como o espaço intermembranoso, é crucial na síntese de ATP pela fotofosforilação. Na membrana dos tilacoides, ocorrem as reações diretamente dependentes da luz e, portanto, denominadas de reações do claro, que serão vistas em detalhes no capítulo 9. Essas reações ocorrem nos fotossistemas, formados por pigmentos, dentre os quais os mais importantes são as clorofilas do tipo A e do tipo B e também por cadeias transportadoras de elétrons. Existem, nos eucariotas superiores, dois tipos de fotossistemas denominados de I e II. Além dos fotossistemas, encontramos nas membranas tilacoidais uma ATP sintetase bastante similar àquela das cristas mitocondriais.

No estroma encontram-se as enzimas responsáveis pelas reações do escuro, que juntas formam o ciclo de Calvin-Benson. A primeira enzima, denominada Rubisco, é a principal responsável pela fixação do CO_2 atmosférico e corresponde à proteína mais abundante na natureza. No estroma, encontram-se também as enzimas responsáveis pela síntese dos ácidos graxos, bem como aquelas que sintetizam amido. Ainda no estroma, encon-

tramos o genoma cloroplástico, bem mais amplo que o genoma mitocondrial, mas igualmente circular, e encontram-se também os ribossomos e os vários tipos de RNA.

2.4. Sistema de endomembranas

O retículo endoplasmático granuloso é um sistema único de membrana que emerge a partir da membrana externa do envelope nuclear. Esse sistema membranoso se espalha pelo citosol com o auxílio do citoesqueleto, formando estruturas que aparentam várias cisternas empilhadas, que, na realidade, resultam de invaginações e evaginações da membrana.

O lúmen, espaço circundado por essa membrana, é interligado com o espaço perinuclear, e suas funções serão detalhadas no capítulo 7. Na face externa do retículo endoplasmático granuloso, encontramos vários ribossomos aderidos, sintetizando proteínas que integrarão a membrana ou serão internalizadas através de canais especializados denominados de “translocon.” O retículo endoplasmático granuloso é contínuo com o retículo endoplasmático não granuloso.

O retículo endoplasmático não granuloso possui uma morfologia totalmente diferenciada do retículo endoplasmático granuloso, constituindo uma rede tubular que ora se bifurcam, ora se anastomosam. Não possuem ribossomos aderidos, e suas funções são bastante diferenciadas daquelas do retículo endoplasmático granuloso. Entre as várias funções do retículo endoplasmático não granuloso, podemos citar a síntese de fosfolípidos de membranas, processos de desintoxicação celular e síntese de hormônios esteróis.

O complexo golgiense consiste no conjunto de sáculos lameliformes (antigamente denominado de dictiossomos) presentes na célula. Os sáculos lameliformes são compostos de várias cisternas empilhadas que podem estar ligadas entre si ou separadas. Possuem um lado convexo, denominado de face cis, e voltado para o núcleo e um lado côncavo, denominado de lado trans, e voltado para a membrana plasmática. Dentre as várias funções do complexo golgiense encontra-se a formação dos lisossomos.

Os lisossomos são pequenas vesículas constituídas por várias enzimas hidrolases como nucleases, proteases responsáveis pela digestão de materiais fagocitados ou pinocitados pela célula. Os lisossomos participam também dos processos de autofagia.

2.5. Núcleo

O núcleo das células eucarióticas se caracteriza principalmente por apresentar um envoltório membranar denominado de envelope nuclear. O envelope é constituído por duas membranas que delimitam o espaço perinuclear. Em

determinadas regiões, essas membranas se fundem, formando os poros nucleares, responsáveis pelo intercâmbio entre o citoplasma e o núcleo. Abaixo da membrana interna, encontraremos uma rede de filamentos intermediários que formam a lâmina nuclear. No nucleoplasma, a parte líquida do núcleo, encontra-se a cromatina, que corresponde às moléculas de DNA e às proteínas associadas. Em algumas regiões, a cromatina aparece mais densamente corada formando o nucléolo.

2.6. Citoesqueleto

As células possuem um sistema de filamentos proteicos que dão sustentação às membranas, formando o córtex celular, mas que cruzam todo o citoplasma formando uma rede de sustentação ou uma trilha que serve de transporte intracelular com o auxílio das proteínas motoras.

O citoesqueleto é formado por três tipos de filamentos diferentes, que, de acordo com a sua espessura, podem ser classificados em: macrofilamentos, filamentos intermediários e microfilamentos. Os macrofilamentos são formados pelos microtúbulos, cujo diâmetro é igual a 20 nm. Os microtúbulos são compostos de treze protofilamentos. Cada protofilamento é formado pela polimerização de dímeros de α e β -tubulina. Os microtúbulos são montados em uma região próxima ao núcleo, denominada de centrosomo. Além de participar do citoesqueleto, os microtúbulos formam os centríolos, os corpúsculos basais, os cílios e os flagelos. Durante a divisão celular, eles são recrutados para a formação do fuso mitótico.

Os filamentos intermediários, ao contrário dos macro e das microfilamentos, são formados por proteínas fibrosas, podendo o tipo de proteína variar de acordo com a célula. Assim, existem filamentos formados pela proteína queratina, que são os mais abundantes, mas existem também os filamentos compostos de desmina, de vimentina e os laminofilamentos, compostos de lâminas. Essas proteínas se associam lado a lado formando as fibras de 10 nm de diâmetro, aproximadamente.

Os microfilamentos são formados por um único tipo de proteína globular, a actina. As moléculas de actina se polimerizam, formando uma estrutura que consiste de dois protofilamentos torcidos cujo diâmetro é igual a 7 nm.

2.7. Microcorpos

Juntamente com os lisossomos, os peroxissomos e os glioxissomos são denominados de microcorpos devido aos seus pequenos tamanhos e pela simplicidade de suas estruturas. Todos eles possuem um formato ligeiramente circular e são envoltos por uma única membrana. A função dos lisossomos já foi brevemente descrita na seção de endomembranas.

No que diz respeito aos peroxissomos, eles são os principais responsáveis pela eliminação das espécies reativas do oxigênio, evitando que estes causem danos às membranas e às macromoléculas. Essa propriedade se deve principalmente à presença em grande quantidade da enzima catalase, responsável pelo desdobramento do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em H_2O e O_2 . Nas plantas, além do processo antioxidante, os peroxissomos são muito importantes no processo de fotorrespiração.

Os glioxissomos são encontrados apenas em células vegetais, principalmente nas sementes de plantas oleagenosas. Eles possuem um ciclo enzimático, que seria um desvio do ciclo de Krebs, denominado ciclo do glioxilato. Através desse ciclo, as células conseguem transformar os lipídios em carboidratos, o que é de extrema importância no desenvolvimento dos embriões nas sementes cuja reserva é principalmente de lipídios.

2.8. Ribossomos

Os ribossomos não são tradicionalmente denominados de organelas, devido à ausência de uma membrana envolvendo essa estrutura. Portanto, para alguns autores, os ribossomos são estruturas supramoleculares. Entretanto essa classificação não diminui o grau de organização e a importância dos ribossomos para as células. Afinal, eles são os responsáveis pela síntese de proteínas.

Os ribossomos são constituídos de proteínas e RNA ribossomais. Esses polímeros são ligados por interações hidrofóbicas e eletrostáticas, não havendo ligações covalentes entre eles. Os ribossomos são formados por duas subunidades, uma grande e uma pequena. Eles possuem três sítios de ligação para o RNA transportador. O sítio A, onde se liga o RNA transportando o aminoácido; o sítio P, onde fica o RNA transportando o polipeptídeo que está sendo formado e o sítio E (exit = saída), onde fica temporariamente o RNA antes de voltar para o citosol.

Os ribossomos procaríotas guardam grande similaridade com os eucariotas, principalmente do ponto de vista funcional, uma vez que ambos sintetizam proteínas. Entretanto, existem grandes diferenças nos tipos de RNA ribossômicos, bem como das proteínas que formam as duas subunidades. Essas diferenças são refletidas na formação do complexo de associação com o RNA mensageiro e o início da síntese de proteínas.

2.9. Parede celular

As células vegetais apresentam em torno da membrana plasmática uma parede que, além de conferir proteção é importante no crescimento celular. Essa parede é formada principalmente por um polímero de glicose, a celulose, e por pectina. Em algumas plantas, existe também uma grande quantidade de lignina nas suas paredes. Essas paredes não são contínuas, pois apresen-

tam perfurações por onde atravessam estruturas formadas pelas membranas plasmáticas das células chamadas de plasmodesmas. Esses canais unem os citoplasmas das células vizinhas, formando um espaço contínuo entre eles, chamado de simplástico.

Normalmente, os outros eucariotas não apresentam parede celular. No entanto, algumas células apresentam, na parte externa da membrana plasmática, uma grande quantidade de oligossacarídeos ligados às proteínas e aos lipídios da membrana. Como esses carboidratos são bastante polares, vários outros carboidratos e proteínas da matriz extracelular podem associar-se a eles formando o glicocálice, que se assemelha a uma parede. Já os fungos possuem uma parede diferente daquela das células vegetais e que é rica em quitina (um polissacarídeo de N-acetil-glicosamina).

2.10. Vacúolos

As células vegetais jovens possuem vários vacúolos, mas, à medida que a célula amadurece, esses vacúolos se fundem para formar um grande vacúolo central. O vacúolo chega a ocupar 95% do citosol da célula vegetal. A membrana que envolve o vacúolo é denominada de tonoplasto e possui várias proteínas transportadoras que jogam uma grande quantidade de íons dentro do vacúolo. Esses íons atraem a água, que incha a célula e faz pressão sobre a parede celular.

Essa é a pressão osmótica, mas, nas células vegetais, é conhecida como “pressão de turgor” porque aumenta a turgescência da célula. Nos vacúolos encontram-se várias hidrolases e, nos vacúolos de algumas plantas, encontramos também pigmentos, como a antocianina que dá cor às folhas e às flores.

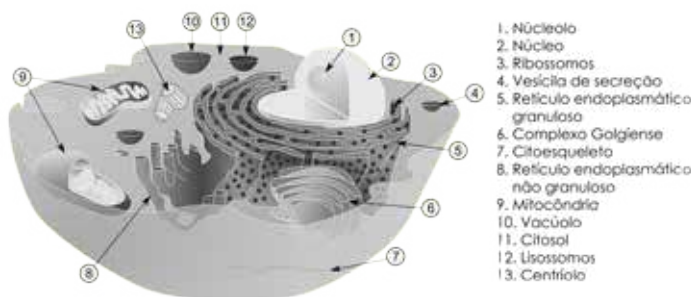
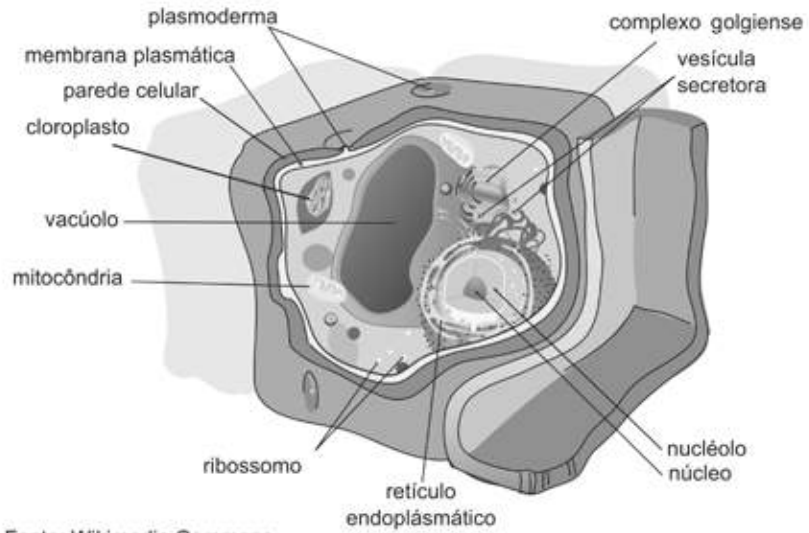


Figura 7 – Visão geral da célula animal



Fonte: Wikimedia Commons

Figura 8 – Característica da célula vegetal.

Saiba mais



Nas folhas dos vegetais encontramos os estômatos, uma estrutura muito interessante. Essas estruturas estão situadas na epiderme das folhas, normalmente na face inferior (axial). Elas são formadas por duas células especializadas, as células-guardas. Quando entumescidas, as células-guardas se afastam de maneira a formar entre elas um grande poro que dá acesso ao interior da folha. É por esse poro, denominado de estômato, que a planta transpira (perde água) e ocorre a troca gasosa, ou seja, a planta absorve CO_2 e libera O_2 .

Você pode visualizar facilmente os estômatos na planta rio negro usando um microscópio óptico. Essa planta possui a parte superior da folha de cor verde e a parte inferior possui uma cor violeta devido à grande quantidade de antocianinas nos vacúolos das células que formam a epiderme. Portanto, fazendo um corte fino da epiderme inferior você poderá visualizar uma quantidade enorme de estômatos e os vacúolos das células da epiderme devido à presença de antocianinas dentro deles.

Síntese do Capítulo



Atualmente os organismos são agrupados em três domínios: Bacteria e Archaea, em se situam os procaríotas (eubactérias e archeobactérias) e o domínio Eucarya, em que estão localizados os eucariotas. Os procaríotas diferem dos eucariotas principalmente devido à presença de um envoltório que sepa-

ra o genoma dos eucariotas do meio citoplasmático. O genoma bacteriano encontra-se livre no citosol, ligeiramente condensado formando o nucleoide.

As archeobactérias vivem em condições inóspitas, como alta temperatura, baixo pH e alta salinidade. As eubactérias são classificadas principalmente pela composição de suas paredes que respondem de forma diferente à coloração de gram, sendo, portanto gram positivas ou gram negativas. Elas existem em formas bastante variadas como cocos (redondas), bacilos (alongadas) e vírgula (vibriões). Possuem também vias metabólicas distintas e podem ser aeróbias e anaeróbias.

Nos eucariotas encontram-se organelas que estão ausentes nas bactérias e um sistema de endomembranas, que teve sua origem a partir da membrana plasmática. Esse sistema é constituído pelo retículo granuloso, o retículo não granuloso e o complexo golgiense. O retículo granuloso é responsável pela síntese e pelo transporte de proteínas que vão ser exocitadas. Entre as diversas funções do retículo não granuloso, está a síntese dos lipídios de membranas.

Dentre as organelas, podemos destacar a mitocôndria, que é a principal responsável pela produção de ATP na célula. No cloroplasto, presente nas células vegetais e em algumas algas, é onde ocorre a fotossíntese. Os lisossomos produzidos pelo complexo golgiense são responsáveis pela digestão celular e pela autofagia.

Atividades de avaliação



1. Descreva as principais diferenças entre uma célula procariótica e uma célula eucariótica.
2. Quais são as estruturas que distinguem uma célula vegetal de uma célula animal?
3. Faça um paralelo entre as mitocôndrias e os cloroplastos.
4. As células vegetais não possuem lisossomos. Que organela você elegeria para a função digestiva nas células vegetais?
5. Por que as células possuem paredes tão diferentes?
6. Como você explicaria o fato das archaeobactérias estarem mais próximas dos eucariotas, uma vez que elas são, do ponto de vista bioquímico, tão diferentes.
7. Analisando a complexidade das diferentes organelas das células eucarióticas, como essas células podem ter evoluído a partir de células procarióticas.

Referências



- ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.
- DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**. 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.
- LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. Editora: FREEMAN – USA, 2008.
- PURVES, W. et al. **Vida, a Ciência da Biologia**. 6ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed, 2002.

Capítulo

3

**Métodos de estudo
em Biologia Celular**

Objetivos

- Conhecer os princípios da microscopia ótica e eletrônica, além de distinguir as diferentes partes que compõem o microscópio ótico e suas respectivas funções.
- Tomar ciência de outras variações do microscópio ótico.
- Distinguir os diferentes métodos de análise dos componentes celulares, como coloração, fracionamento e os métodos bioquímicos e imunoquímicos.

Introdução

O advento do microscópio trouxe à luz o minucioso e delicado mundo da célula. Dessa forma, com o microscópio ótico, foi possível demonstrar as diferentes fases da divisão celular e, através de colorações específicas, foi possível evidenciar a presença de organelas, como as mitocôndrias e o complexo golgiense. Com o aperfeiçoamento da microscopia ótica através do uso das características de difração da luz pelas células, foram criados novos métodos microscópicos, como a microscopia de fase, de contraste e a fluorescente, aumentando o grau de utilização desse microscópio que continua sendo o mais utilizado em Biologia Celular.

Posteriormente, com o advento da microscopia eletrônica de transmissão e varredura, e dos recursos utilizados para melhor exploração do poder resolutivo desses instrumentos, foi possível desvendar a célula na sua total integridade. Hoje, podemos analisar com detalhes as estruturas das organelas, termos uma visão tridimensional dessas estruturas e até mesmo localizar moléculas nos compartimentos celulares.

Algumas células podem ser examinadas diretamente no microscópio ótico. Por exemplo, em um exame direto do tecido sanguíneo podemos visualizar as formas tripomastigotas do *Trypanozoma cruzi* se movimentando, ou então as formas promastigotas da *Leishmania spp.* em um meio de cultura. No entanto, a maioria das células são incolores, mesmo as organelas ou as granulações existentes no citossol aparecem transparentes quando visualizadas em microscopia ótica.

Dessa forma, para se obter uma visão mais apurada das células utilizam-se recursos de coloração. No entanto, o processo de coloração pode danificar algumas estruturas celulares, sendo necessário um procedimento de preparação das células ou dos tecidos anterior à coloração.

Além da microscopia, existem vários outros métodos que permitem estudar as células e seus componentes. Assim, através de técnicas bioquímicas e imunológicas, é possível identificar células, separar suas organelas e até mesmo detectar moléculas específicas.

1. Microscópio ótico

A figura 9 mostra as diferentes partes que compõem um microscópio ótico. Podemos observar que um foco de luz clara é dirigido às lentes no condensador que concentra essa luz. A luz é então dirigida ao espécime biológico, atravessando-o. Portanto, o espécime deve ser preparado de tal forma que permita à luz emitida passar sobre ele.

Um conjunto de lentes denominadas “objetivas” projeta uma imagem aumentada do espécime dirigindo-a a outro conjunto de lentes (oculares) que permite o foco correto do espécime na retina ou em algum acessório, como uma câmera que registrará a imagem.

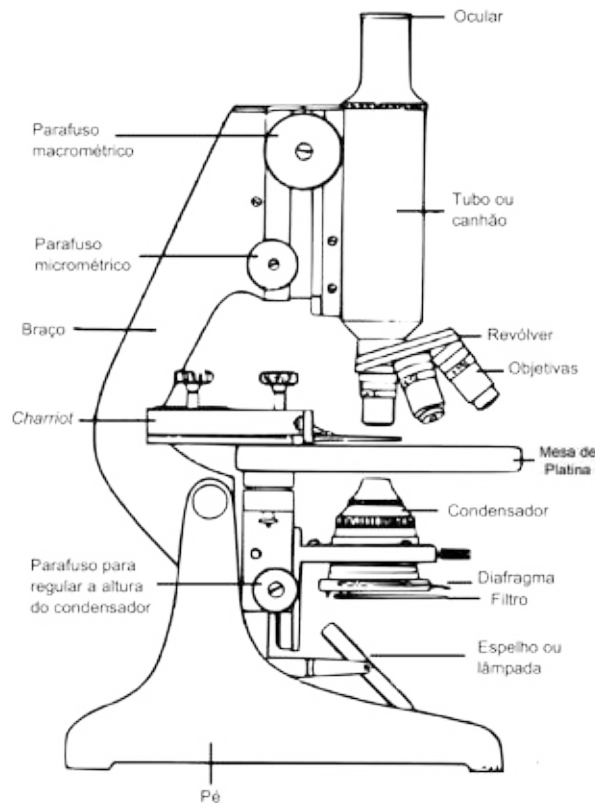


Figura 9 – Microscópio ótico.

1.1. Poder de resolução do microscópio

O poder de resolução consiste na capacidade de distinguir dois pontos bastante próximos. O olho humano tem um poder de resolução igual a 0,2 mm sendo, portanto, incapaz de distinguir células em um tecido, considerando que dificilmente uma célula possui um tamanho igual ou superior a 200 μm .

O microscópio ótico por sua vez permite aumentar o tamanho de células em até mil vezes, possuindo um poder de resolução de até 0,2 μm . A limitação do poder de resolução é determinada pelo comprimento de onda da luz utilizada e pela abertura numérica da objetiva. Ele pode ser calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Resolução} = \frac{0,61\lambda}{AN}$$

Onde:

λ = corresponde ao comprimento de onda da luz utilizada (normalmente utiliza-se para a luz branca 530 nm).

AN = é denominado de abertura numérica das lentes e é uma função de sua capacidade de coletar luz, podendo ser calculado de acordo com a fórmula:

$$AN = n \sin \theta$$

Onde:

n = é o índice de refração do meio que separa a amostra das lentes objetiva e condensadora. Para as lentes de aumento até 40 x, o meio é o próprio ar, mas, para aquela que aumenta 100 x, utiliza-se óleo de imersão separando a amostra da lente.

θ = representa a metade da largura angular do cone dos raios coletados pelas lentes objetivas de um ponto típico na amostra (como a largura máxima é 180°, o seno tem o valor máximo de 1).

Para lentes secas, a AN não pode ser maior que 1, mas, para lentes de imersão em óleo, ela pode atingir 1,4. Quanto maior a abertura numérica, maior a resolução e mais luminosa a imagem.

1.2. Microscopia de contraste de fase

Esse microscópio se baseia no fato que a luz muda sua velocidade ao atravessar estruturas celulares e extracelulares que tenham índices de refração diferentes. Essas mudanças são usadas pelo sistema de contraste de fase para fazer com que as estruturas apareçam mais claras ou mais escuras.

Outra técnica utilizada é a microscopia de contraste diferencial (microscopia de Nomarski), que produz uma imagem aparentemente tridimensional.

1.3. Microscopia confocal

Nesse microscópio, o espécime é iluminado por um feixe de luz muito estreito, sendo que a imagem coletada do espécime deve passar por um pequeno orifício. A consequência desse arranjo é que só a imagem originada do plano focalizado alcança o detector, enquanto as imagens de planos anteriores são bloqueadas.

A luz proveniente de fora do plano de foco é, em grande parte, eliminada, a definição do objeto focalizado fica melhor e a localização dos componentes do espécime pode ser feita com muito mais precisão que no microscópio ótico.

1.4. Microscópio de polarização

A luz polarizada é aquela luz cujos raios vibram em uma só direção. O microscópio de polarização possui, acoplado abaixo do condensador, um filtro polarizado (como um filtro polaroide) responsável pela polarização da luz. Se as estruturas do espécime a ser observado tiverem natureza isotrópica, isto é, apresentarem o mesmo índice de refração indiferente da direção observada, a luz polarizada se propagará através do espécime com a mesma velocidade, independente da direção do plano de incidência.

No entanto, muitas estruturas celulares são birrefringentes. Birrefringência é a capacidade que certas estruturas têm de girar o plano de vibração da luz polarizada. As fibras de colágeno e os microtúbulos, por possuírem um alto grau de orientação, modificam o plano da luz polarizada. Portanto, essas estruturas aparecem luminosas contra um fundo escuro.

Além do filtro polaroide, esse tipo de microscópio possui um analisador prismático situado acima das lentes objetivas.

1.5. Microscópio de fluorescência

Corantes fluorescentes utilizados para corar células são detectados com a ajuda de um microscópio de fluorescência, similar ao microscópio ótico, exceto que a luz emitida pela fonte passa através de dois conjuntos de filtros. No primeiro conjunto de filtros, a luz, antes de alcançar o espécime, é de tal maneira modificada que passam apenas comprimento de onda que excitam um determinado corante fluorescente.

O segundo conjunto de filtros bloqueia a luz que passa pelo primeiro conjunto e deixa passar apenas os comprimentos de onda emitidos quando o corante fluoresce. Objetos corados aparecem brilhantes em um fundo negro.

1.6. Marcos históricos do uso da microscopia ótica em células

- 1611** – Kepler sugere uma forma para construção de um microscópio composto.
- 1655** – Hooke usou um microscópio primitivo para descrever pequenos poros em uma seção de cortiça que ele chamou de “células”.
- 1674** – Leeuwenhock reportou a descoberta dos protozoários. Ele observou as bactérias pela primeira vez nove anos mais tarde.
- 1833** – Brown publicou suas observações microscópicas em orquídeas, descrevendo claramente o núcleo da célula.
- 1838** – Schleiden e Schwann propuseram a teoria celular afirmando que as células nucleadas são as unidades básicas dos animais e vegetais.
- 1857** – Kölliker descreveu a mitocôndria em células do músculo.
- 1876** – Abbé analisa os efeitos da difração na formação da imagem no microscópio e mostra como aperfeiçoar o modelo do microscópio.
- 1879** – Flemming descreveu com grande clareza o comportamento dos cromossomos durante a divisão celular.
- 1881** – Retzius descreveu vários tecidos animais com detalhes jamais visto antes. Cajal e outros histologistas desenvolveram métodos de coloração que revelaram a estrutura das células nervosas e a organização dos tecidos neurais.
- 1898** – Golgi viu pela primeira vez e descreveu o aparelho que leva seu nome corando células com nitrato de prata.
- 1902** – Boveri relaciona os cromossomos com a hereditariedade pela observação do comportamento destes durante a reprodução sexual.
- 1930** – Lebedeff projetou e construiu o primeiro microscópio de interferência. Em 1932, Zernicke inventou o microscópio de contato de fase. Estes dois desenvolvimentos permitem que células vivas não-coradas sejam vistas em detalhes.
- 1952** – Nomarski inventou o sistema de contraste de interferência diferencial para o microscópio ótico que continua a levar o seu nome.
- 1952** – Palade, Porter e Sjöstrand desenvolveram métodos de microscopia eletrônica que permitem a visualização de muitas estruturas intracelulares. Em uma das primeiras aplicações das técnicas, Huxley mostrou que o músculo contém feixes de filamentos de proteínas – a primeira evidência do citoesqueleto.
- 1957** – Robertson descreveu a estrutura bilaminar da membrana celular, vista pela primeira vez ao microscópio eletrônico.
- 1968** – Petráň e colaboradores fizeram o primeiro microscópio confocal.
- 1981** – Allen e Inoué aperfeiçoaram o microscópio ótico de contraste com sistema de vídeo avançado.

2. Microscópio eletrônico de transmissão

O microscópio eletrônico de transmissão (MET) é, em princípio, similar a um microscópio ótico invertido, apesar de usar um feixe de elétrons, em vez de um feixe de luz, e uma bobina magnética para focar o feixe, em vez de lentes de vidro. O espécime que é colocado sob vácuo deve ser extremamente delgado. Geralmente o contraste é obtido pelo uso de corantes baseados em metais elétron-densos que absorvem ou espalham elétrons, removendo-os do feixe à medida que eles passam através do espécime.

O MET possui um poder de aumento útil de até um milhão de vezes e uma resolução, com espécimes biológicos, de cerca de 2 nm. Essa alta resolução deve-se ao fato que no vácuo os elétrons se comportam como partículas em movimentos com comprimento de onda bastante pequeno e, portanto, conseguem atravessar dois pontos extremamente próximos.

3. Microscópio eletrônico de varredura

No microscópio eletrônico de varredura (MEV), o espécime que foi recoberto por um filme extremamente delgado de um metal pesado é varrido por um feixe de elétrons focalizados no espécime por uma bobina eletromagnética que, nos microscópios eletrônicos, age como lentes.

A quantidade de elétrons espalhados ou emitidos quando o feixe varre cada ponto sucessivo na superfície do espécime é medida pelo detector e usada para controlar a intensidade de pontos sucessivos em uma imagem projetada na tela de vídeo. O microscópio eletrônico de varredura cria imagens impressionantes em três dimensões com grande profundidade de foco e uma resolução entre 3 nm e 20 nm, a depender do instrumento utilizado.

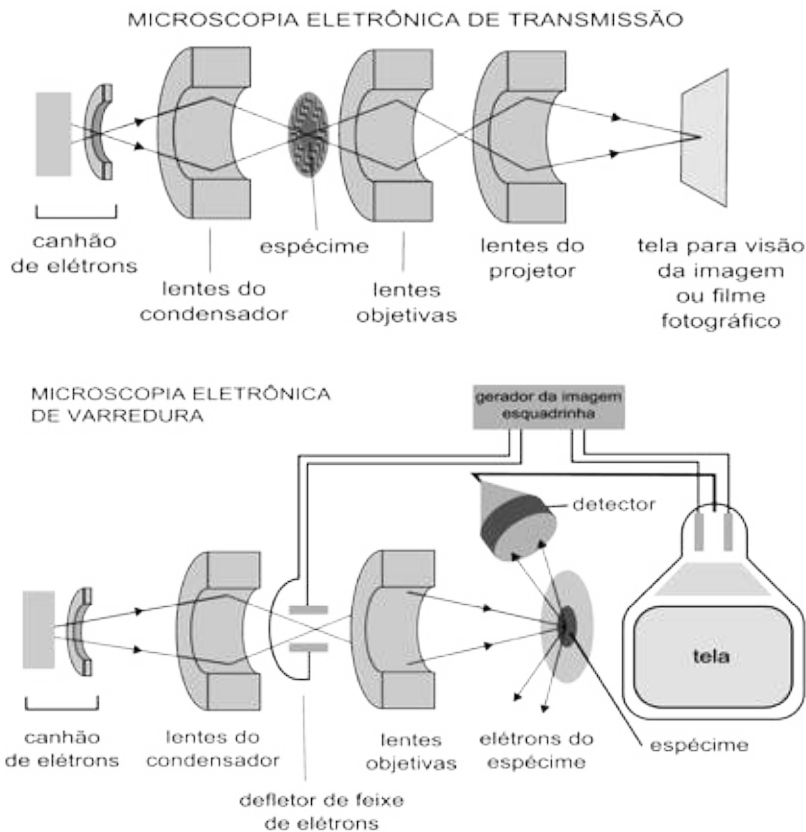


Figura 10 – A figura mostra de forma esquemática o princípio do funcionamento do microscópio eletrônico de transmissão (acima) e do microscópio eletrônico de varredura.

4. Preparação dos tecidos para visualização em microscópio

Como foi enfatizado na Introdução, as células são transparentes em sua maioria, precisando serem coradas para uma melhor visualização no microscópio. Nos itens a seguir analisaremos as diferentes etapas para a obtenção de material que nos permita não somente ver como também identificar os diferentes tipos de células.

4.1. Fixação

O processo de fixação consiste em mergulhar o espécime a ser analisado em uma substância que cessa os processos metabólicos celulares, preservando as suas estruturas. Normalmente a fixação mata a célula, embora existam métodos, como a criogenia pela qual o tecido ou células são mergulhados em nitrogênio líquido (-180°C), que para imediatamente o metabolismo celular, mas, uma vez que a célula volta à temperatura ambiente ela recupera todas

as suas funções vitais. Esse método é bastante utilizado quando se deseja localizar dentro de um tecido proteínas através de sua atividade biológica como, por exemplo, as enzimas.

4.2. Inclusão

Para visualizar um espécime é necessário que este seja fino o suficiente para permitir que o feixe de luz o atravesse. No entanto, os tecidos normalmente apresentam uma consistência mole dificultando o corte em fatias extremamente finas. A inclusão de parafina no tecido permite a formação de blocos que podem ser cortados em um instrumento denominado micrótomo (Figura 11). Para que a parafina penetre na célula, ela é primeiramente desidratada através da imersão em concentrações crescentes de etanol. Em seguida, a amostra é embebida com um solvente orgânico, normalmente o xilol, que dissolverá a parafina.

No caso de microscopia eletrônica, é necessário que a espessura do material a ser visualizado seja ainda mais fina e, portanto, é utilizado um produto que deixe o bloco ainda mais duro, normalmente as resinas de epóxi. O fatiamento é feito com um ultramicrótomo cuja lâmina é bem mais resistente do que a do micrótomo, podendo ser um metal duro ou então de vidro.

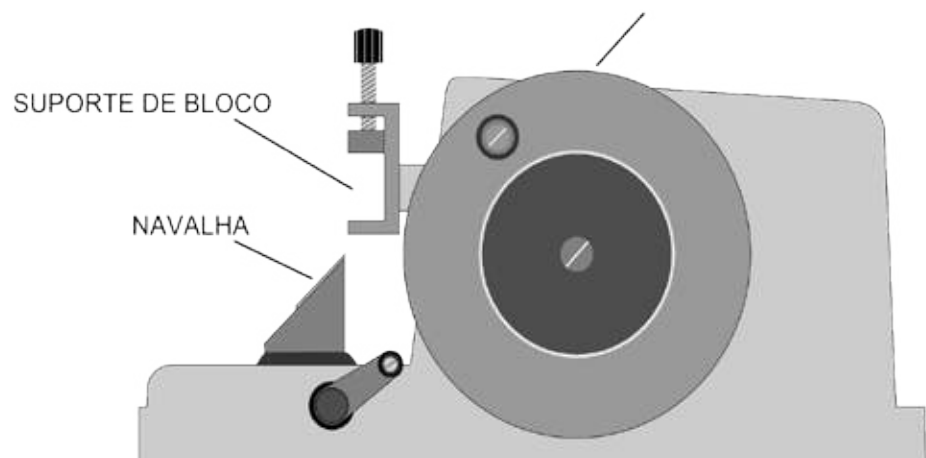


Figura 11 – Micrótomo e suas diferentes estruturas. Cortesia de João Mafaldo de Oliveira Neto.

4.3. Coloração

Os corantes usados em Citologia podem apresentar caráter ácido ou básico. Eles formam ligações eletrostáticas com moléculas presentes no núcleo ou no citossol favorecendo a distinção entre estas estruturas.

As moléculas que apresentam afinidade por corantes básicos são denominadas basófilas, e aquelas que possuem afinidade por corantes ácidos são chamadas de acidófilas. Portanto, os corantes, em sua maioria, são inespecíficos, ligando-se a moléculas simplesmente por interações polares. Os corantes ácidos mais comuns são a eosina, orange G e a fucsina ácida, e os básicos são a hematoxilina e o azul de metileno.

5. Fracionamento celular

As organelas podem ser separadas através de centrifugações diferenciais ou por gradientes de densidade (Figura 12). A centrifugação produz o fracionamento celular através das diferenças de tamanho e densidade das organelas. Essas propriedades dão às organelas diferentes coeficientes de sedimentação quando submetidas a uma força centrífuga.

Dessa forma, uma baixa velocidade precipita aquelas partículas maiores, ou mais pesadas, deixando no sobrenadante as partículas mais leves. Os gradientes são formados durante a centrifugação, usando-se substâncias que não irão interagir com as partículas, como o percol ou o ficol. Mas os gradientes de sacarose também são bastante utilizados, bem como o gradiente de cloreto de cézio, um sal de metal pesado.

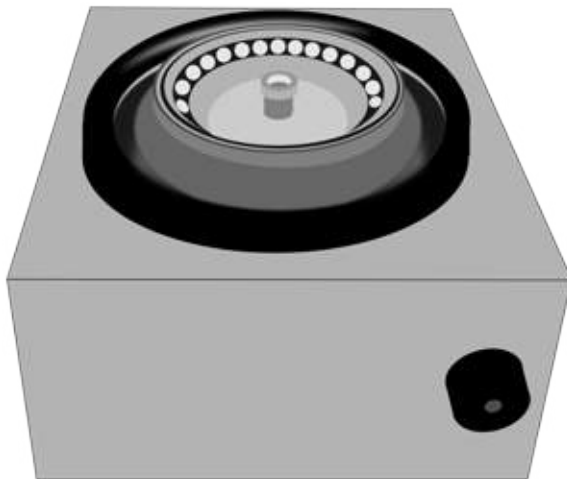


Figura 12 – A figura superior mostra um rotor de uma centrífuga

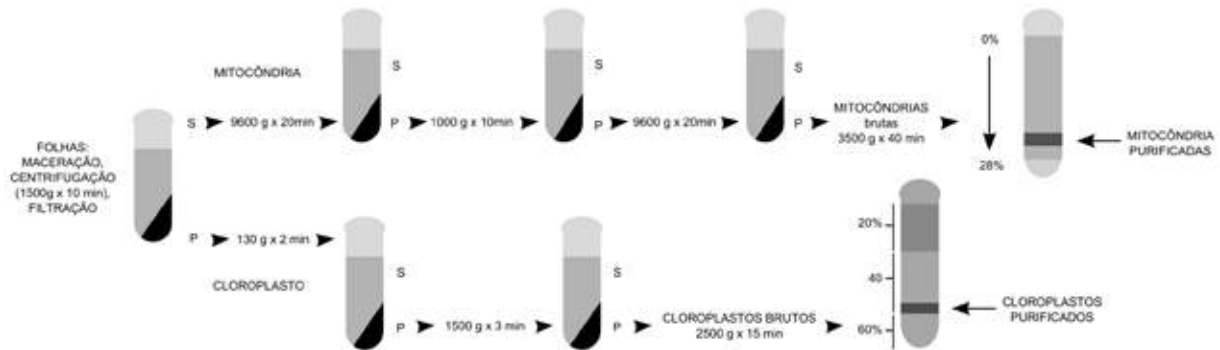


Figura 13 – A figura mostra um rotor de uma centrífuga e na parte inferior é apresentado um esquema de purificação de mitocôndrias e cloroplastos usando centrifugações diferenciais e gradiente de densidade. Para as mitocôndrias é usado um gradiente autogerado de percol e para os cloroplastos, utiliza-se um gradiente descontínuo de sacarose (S = sobrenadante e P = precipitado).

6. Eletroforese

As proteínas podem ser separadas em um suporte sólido quando submetidas a uma diferença de potencial. Em pH acima do seu ponto isoeletrico, as proteínas possuem uma carga líquida negativa. O suporte sólido é formado por um polímero de acrilamida cujos diâmetros dos poros variam de acordo com a concentração de acrilamida.

Como todas as proteínas estão com uma carga negativa, todas irão migrar em direção ao ânodo, que tem carga positiva. Portanto, a separação das proteínas será baseada em seus pesos moleculares, ou seja, os polipeptídeos maiores migrarão mais lentamente, enquanto os menores atravessarão mais rapidamente o gel. Normalmente utiliza-se o detergente dodecil sulfato de sódio (SDS) para conferir uma carga mais negativa. Por isso, esse tipo de eletroforese é abreviado como SDS-PAGE (Figura 14).

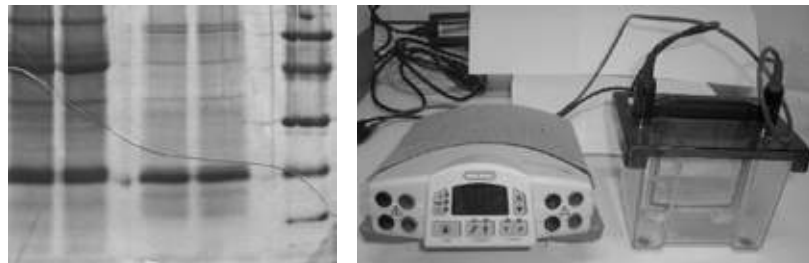


Figura 14 – O aparelho de eletroforese mostrado na figura à esquerda consiste em uma cuba onde são colocados os géis de acrilamida e aplicados sobre estes os extratos proteicos. A cuba é dividida em dois compartimentos, um contendo o eletrodo positivo (ânodo) e o outro o eletrodo negativo (o cátodo). Uma solução de tris/glicina faz a ponte entre os dois eletrodos. Ao lado direito da cuba, está a fonte que aplicará a voltagem responsável pela formação da diferença de potencial. Na figura à direita encontra-se um gel de poliacrilamida em que as bandas protéicas foram reveladas após coloração com Coomassie blue. Na última fila à direita estão os marcadores de peso molecular que serão utilizados para fazer-se uma curva padrão.

7. Métodos histoquímicos

Esses métodos são utilizados para detectar a localização de moléculas específicas nos tecidos. Normalmente, são usados corantes que reagem com determinados tipos de substâncias, como por exemplo, o reagente de Feulgen que reage com o DNA, o reagente de Schiff, que se liga aos carboidratos e os corantes Sudan IV e Sudan Black, que identifica os lipídios.

Proteínas podem ser identificadas através de suas atividades biológicas. As enzimas são normalmente localizadas nos tecidos pela adição do substrato enzimático, cujo produto da reação é colorido ou então esse produto deve interagir com um outro reagente que lhe confere uma cor, localizando dessa forma a enzima.

8. Métodos imunológicos

Esses métodos são utilizados principalmente para localização de proteínas, uma vez que essas macromoléculas apresentam propriedades antigênicas bem superiores às outras moléculas.

Anticorpos são produzidos em animais como camundongos, coelhos, cabras etc., pela injeção da proteína purificada, mais uma substância adjuvante que irá estimular o sistema imunológico do animal a produzir anticorpos contra essa proteína. Esses anticorpos são ferramentas importantes e, portanto, bastante utilizadas em Biologia Celular, em Bioquímica e em exames laboratoriais de uma infinidade de doenças. A seguir descreveremos os métodos mais utilizados.

8.1. Elisa

Nesse método, extratos contendo a proteína de interesse são distribuídos em poços de uma placa de poliestireno à qual as proteínas ficam aderidas. Em seguida, os poços são bloqueados usando-se uma proteína conhecida, normalmente a caseína do leite ou a albumina sérica bovina. Após lavagens com solução salina tamponada, os anticorpos contra a proteína de interesse, são adicionados e deixados a 37° C para que possam interagir.

Esse anticorpo é denominado de anticorpo primário e irá reagir com um anticorpo secundário marcado com uma sonda. Esse anticorpo foi produzido contra as imunoglobulinas do animal utilizado para a imunização. Portanto, se os anticorpos primários foram produzidos por camundongos, é necessário um anticorpo secundário antiimunoglobulinas de camundongos.

A sonda normalmente utilizada se trata de uma enzima cujo produto possui uma cor que será detectada em um espectrofotômetro conhecido como leitor de ELISA. A enzima normalmente usada é uma peroxidase que tem como substrato o peróxido de hidrogênio e o DAB (diaminobenzamidine) e tem como cofator o níquel. O produto formado é o que absorve luz visível de comprimento de onda igual a 492 nm (Figura 15.).

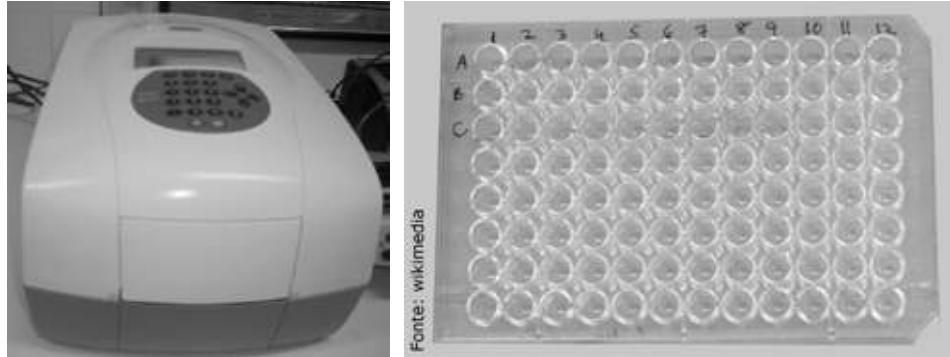


Figura 15 – Aparelho utilizado para a leitura de placas de ELISA. Trata-se de um espectrofotômetro que pode detectar a absorvância de substâncias em placas. Cada placa de ELISA, como a mostrada à direita da figura possui 96 poços onde podem ser utilizadas várias diluições diferentes das proteínas e anticorpos.

8.2. *Imunoblotting*

Também chamado de *westernblotting* e possui o mesmo princípio do ELISA, porém utiliza uma metodologia bastante diferente. Nesse caso, as proteínas são primeiramente separadas em uma eletroforese do tipo SDS-PAGE e, em seguida, são transferidas para uma membrana de nylon.

A membrana é também bloqueada como no caso do ELISA e em seguida é mergulhada na solução contendo os anticorpos primários. Após lavagens, é adicionado o segundo anticorpo (anticorpo secundário) ligado a uma enzima. Nesse caso normalmente se utiliza uma fosfatase cujo produto é capaz de reduzir o NBT (nitroblue tetrazolium), formando um produto de cor violeta (formazan). Dessa forma, a banda proteica aparecerá na membrana e poderá ser identificada entre as bandas do extrato proteico através do seu peso molecular.

Síntese do Capítulo



O universo celular começou a ser desvendado depois da criação e do aprimoramento do microscópio ótico. Ele é composto por uma fonte de luz que atravessa a célula e por dois conjuntos de lentes que amplificam essa imagem: as lentes objetivas e as oculares. Existem formas variadas do microscópio ótico que são, na realidade, artifícios usados com o intuito de aprimorar o seu grau de resolução. Podemos citar como exemplo o microscópio de contraste de fase e o microscópio de polarização. A microscopia eletrônica aumentou bastante o poder de resolução dos microscópios devido o fato de ser utilizado feixe de elétrons no lugar da luz. Existem dois tipos de microscópio eletrônico: o de transmissão e o de varredura.

As células, em sua maioria, são transparentes, sendo necessária a utilização de métodos de coloração para uma melhor visualização das suas formas. O corante pode danificar a célula, portanto, antes da coloração é preciso um processo preparatório que consiste nas etapas de fixação e inclusão do tecido em parafina para que ele se torne firme o suficiente para ser fatiado em um micrótomo. Existem vários tipos de corantes ácidos e básicos, sendo os mais conhecidos a eosina, a hematoxilina e o azul de metileno.

Existem outras formas de se estudar a célula além da microscopia. O fracionamento celular, através de centrifugações diferenciais, ou a utilização de gradientes de densidade são importantes quando se deseja estudar as organelas separadamente.

Os métodos bioquímicos e imunoquímicos são outras ferramentas importantes para a análise e caracterização de moléculas importantes da célula.

Atividades de avaliação



1. Você pode ampliar indefinidamente uma imagem. No entanto, você não aumentaria o grau de detalhes dessa imagem. Explique porque.
2. O grau de resolução de um microscópio está diretamente relacionado com o comprimento de onda da luz utilizada. Baseado nessa afirmação, explique o alto grau de resolução do microscópio eletrônico.
3. Qual é a importância de estudar as organelas separadamente se elas trabalham em conjunto com outras partes das células?
4. Quais as características dos anticorpos que os tornam ferramentas tão importantes em Citologia e em Histologia?

Referências



ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. Editora: FREEMAN – USA, 2008.

PURVES, W. et al. **Vida, a Ciência da Biologia**. 6ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed, 2002.

Capítulo

4

Membranas biológicas

Objetivos

- Conhecer de forma detalhada a estrutura da membrana para compreender a denominação do modelo do mosaico fluido.
- Identificar os diferentes constituintes da membrana e suas respectivas funções.
- Pesquisar os mecanismos dos diferentes tipos de transporte através das membranas celulares.

Introdução

No Capítulo 1, nós demonstramos a importância do surgimento das camadas lipídicas na formação da primeira célula. Portanto, agora sabemos que todas as células são individualizadas pela presença de envoltórios que as separam umas das outras e também do meio externo, mas permitindo a troca de matéria e energia sem as quais as células não viveriam.

Neste Capítulo estudaremos os componentes que formam as membranas biológicas, destacando as funções que cada um deles desempenha dentro da célula.

1. Visão geral da membrana plasmática

O modelo aceito atualmente para a estrutura da membrana plasmática foi proposto pelos cientistas S.J. Singer e G. Nicolson, em 1972 e denomina-se modelo do mosaico fluido (Figura 16).

As membranas são compostas por uma bicamada lipídica formada principalmente por fosfolipídios e com proteínas imersas nesse mar hidrofóbico. As proteínas se ligam aos lipídios através de interações hidrofóbicas e eletrostáticas. Entre os lipídios, prevalecem as ligações hidrofóbicas.

Por que as membranas receberam esta denominação de mosaico fluido? A fluidez advém do fato que nem as proteínas nem os lipídios estão ligados por ligações covalentes, o que dá a essas moléculas a liberdade de se movimentarem no sentido do plano da membrana.

Além de lipídios e proteínas, algumas membranas apresentam carboidratos, cujas funções serão descritas posteriormente.

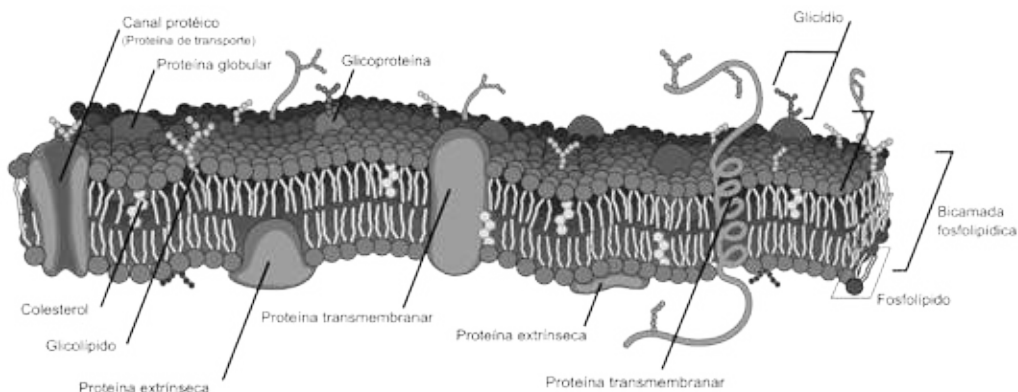


Figura 16 – Desenho esquemático do modelo do mosaico fluido.

fonte: Wikimedia commons

2. Lipídios que compõem as membranas

Os principais lipídios de membrana são os fosfoglicerolípídios (Figura 17). Estes lipídios são formados por uma molécula de glicerol, dois ácidos graxos, um grupamento fosfato e geralmente uma amina associada. Os ácidos graxos se associam ao glicerol através de ligações éster com as hidroxilas dos carbonos C1 e C2 do glicerol. A hidroxila do carbono C3 por sua vez forma uma ligação fosfoéster com o derivado do ácido fosfórico. Este conjunto forma o ácido fosfatídico, cujo radical é denominado fosfatidil. O fosfato encontra-se normalmente ligado a uma amina, mais comumente a colina, formando a fosfatidilcolina, a serina (fosfatidil serina) e a etanolamina (fosfatidil etanolamina). Mais raramente, o fosfato se associa ao inositol, um derivado de carboidrato.

Outro lipídio bastante importante que compõe as membranas dos eucariotas, mas dificilmente é visto em procariontes, é o esterol. Este lipídio se caracteriza por apresentar um conjunto de quatro anéis fundidos denominado ciclopentanodifenantreno. A rigidez destes anéis é um regulador bastante eficiente da fluidez das membranas. Desta forma, quando a temperatura encontra-se um pouco elevada, a movimentação da cauda lipídica dos ácidos graxos, principalmente daqueles que apresentam insaturação, tende a aumentar. No entanto, a rigidez dos anéis funciona como um impedimento estérico (espacial) diminuindo, portanto a fluidez.

Numa outra situação, quando a temperatura do meio diminui, as caudas hidrofóbicas principalmente dos ácidos graxos saturados tendem a se aproximar de forma exacerbada levando a membrana a um estado paracristalino. Mais uma vez, a resistência fornecida pelos anéis impede esta aproximação exagerada. Os esteróis variam principalmente com o reino do organismo. Desta forma, nas membranas animais se encontra o colesterol (Figura 18), nas vegetais o principal esterol é o estigmaesterol e nos fungos, o esfingosterol.

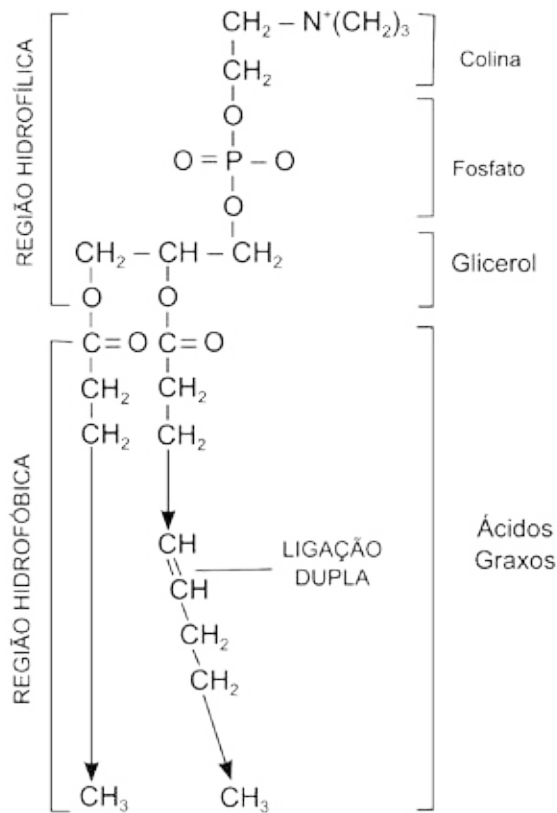


Figura 17 – Estrutura de um fosfolipídico, mostrando a sua cabeça polar com uma colina ligada ao fosfato e as caudas apolares dos ácidos graxos.

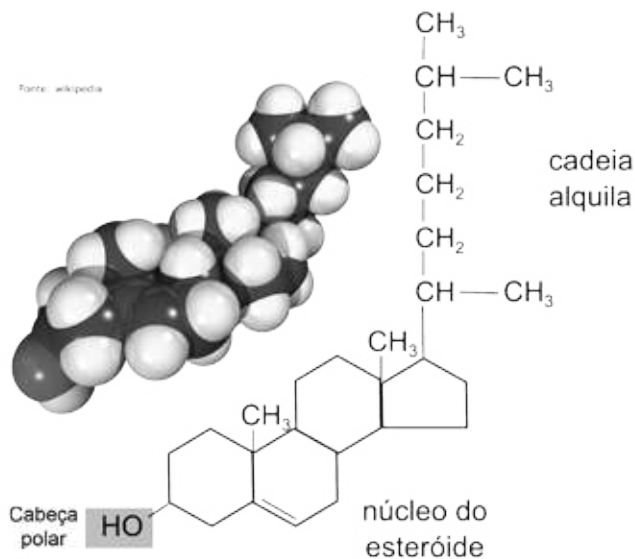


Figura 18 – Estrutura do colesterol, um esterol encontrado nas membranas das células dos animais.

Podemos ainda encontrar nas membranas os lipídios derivados da esfingosina, os esfingolipídios. A esfingosina é uma amina complexa que pode se associar a um ácido graxo, formando a ceramida. A ceramida, por sua vez, pode ter um hidrogênio substituído, dando origem aos outros esfingolipídios. Dessa forma, quando a substituição é feita pelo fosfato ligado à colina, temos a esfingomielina (Figura 19). Quando o radical substituto corresponde a um monômero de glicose ou galactose, temos o cerebrosideo. Os gangliosídeos são os esfingolipídios mais complexos e possuem mais de um carboidrato ligados à ceramida.

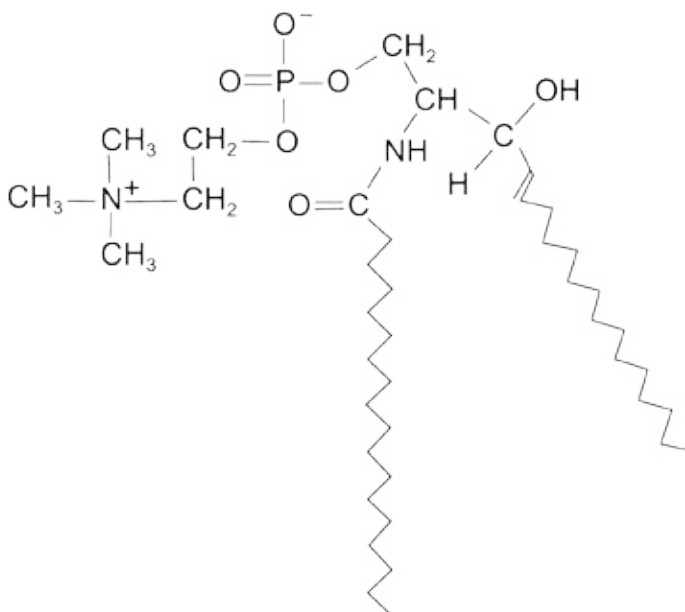


Figura 19 – Estrutura de um tipo de esfingolipídio, a esfingomielina, em que pode ser visto o fosfato ligado à ceramida e a amina colina ligada ao fosfato.

3. Proteínas membranares

Estudos atuais sobre os mais diversificados lipídios têm mostrado funções bastante requintadas para esses compostos, como transportadores de elétrons, sinalizadores químicos (hormônios), antioxidantes, fotorreceptores etc. No entanto, as proteínas continuam sendo as moléculas mais versáteis dos organismos vivos.

Dessa forma, elas podem funcionar como enzimas, proteínas motoras, fatores de transcrição, sinalizadores químicos, receptores de sinais, defesa, transportadores, enfim, é cada vez mais surpreendente a descoberta de novas proteínas e novas implicações destas no maravilhoso mundo celular. Portanto, não causa espanto o fato de serem as proteínas as principais responsáveis pelas inúmeras funções exercidas pelas membranas biológicas.

Baseado nos dados do parágrafo anterior pode-se cogitar que a relação entre a massa proteica e a massa lipídica em uma membrana depende do grau de especialização dessa membrana. Dessa forma, uma membrana como a crista mitocondrial, a qual é composta de vários transportadores, cadeia transportadora de elétrons, assim como a ATP-sintetase, apresenta, em relação ao peso seco, uma massa bem maior de proteínas quando comparada à massa dos lipídios. Nessa mesma organela, podemos verificar que na membrana externa, dita semipermeável, devido à presença de canais bastante amplos (as porinas) a relação de massa seca entre lipídios e proteínas apresenta pouca diferença.

Para refletir

Se as proteínas exercem um maior número de funções nas membranas do que os lipídios, qual a relação de lipídios e proteínas você espera encontrar numa membrana? Imagine esta relação no que diz respeito ao número de moléculas e ao peso seco. Você acha que a sua resposta pode ser estendida a todas as membranas?

3.1. Proteínas integrais de membranas

Elas são assim denominadas por estarem intimamente ligadas às membranas, chegando a atravessá-las em toda a sua extensão. Essas proteínas se caracterizam por apresentarem segmentos bastante hidrofóbicos que interagem com o mar de lipídios formados pelas caudas dos ácidos graxos e pelos esteróis de membrana. No entanto, possuem também segmentos altamente hidrofílicos nas extremidades das membranas, por meio das quais podem interagir com o meio aquoso circundante.

As proteínas integrais são as principais responsáveis pelas funções das membranas (Figura 20). Algumas formam verdadeiros canais por onde íons e outras moléculas carregadas podem atravessar a membrana. Outras funcionam como carreadoras de substâncias polares sem, no entanto, formarem canais. Ainda em se tratando de transportadores, não podemos esquecer as fantásticas bombas responsáveis pelo transporte ativo, que serão analisadas isoladamente no quesito de transporte através de membranas.

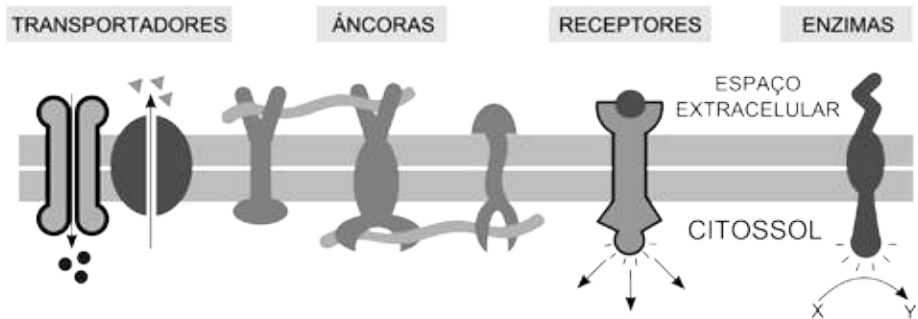


Figura 20 – Diferentes funções das proteínas integrais de membranas.

As proteínas transmembranares podem ser divididas em proteínas unipasso e multipasso (Figura 21). As proteínas unipasso correspondem àquelas que atravessam a membrana apenas uma vez, enquanto as proteínas multipasso chegam a atravessar a membrana até doze vezes.

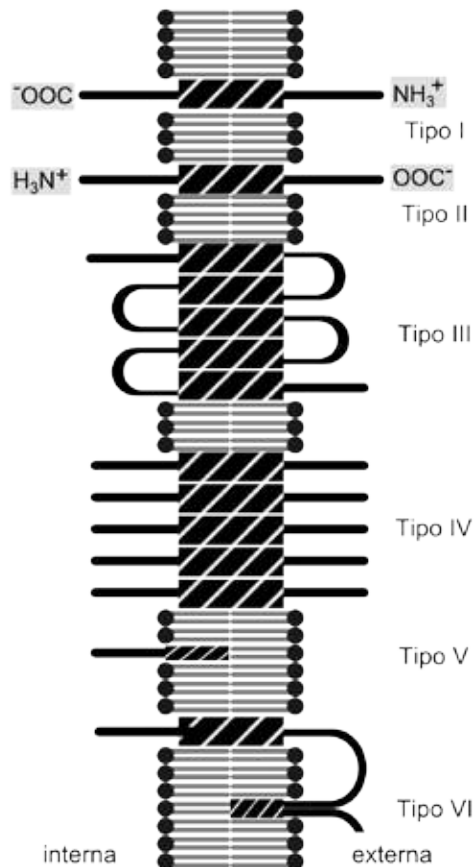


Figura 21 – As proteínas integrais de membranas unipassos e multipassos. A figura apresenta também uma proteína periférica ligada a um lipídio da membrana.

3.2. Proteínas periféricas

Essas proteínas diferem das integrais principalmente pelo seu caráter hidrofílico. Elas se associam às porções polares das membranas através de ligações eletrostáticas com as partes hidrofílicas das proteínas intermembranares ou as cabeças hidrofílicas dos lipídios. Pode haver também ligações covalentes com os lipídios. Apresentam várias funções importantes, podendo destacar a ligação entre o citoesqueleto e a membrana e através do citoesqueleto ligar a membrana à matriz extracelular assim como a outras células.

4. Carboidratos

Pouquíssimas membranas apresentam carboidratos, sendo que as regiões mais comuns para encontrá-los são na face externa da membrana plasmática e na face interna do sistema de endomembranas.

Os carboidratos de membrana são oligossacarídeos que se ligam covalentemente às proteínas ou aos lipídios. Eles exercem importantes funções no reconhecimento dessas moléculas, assim como na interação das mesmas com outras proteínas ou outros tipos de ligantes. No Capítulo 7, estudaremos com detalhes a síntese e a incorporação dos carboidratos nas membranas.

Devido à natureza altamente higroscópica dos carboidratos, eles atraem moléculas de água e outras moléculas polares presentes na matriz extracelular. Dessa forma, várias proteoglicanas podem aderir-se à camada de carboidratos, formando uma estrutura denominada de glicocálice.

Para refletir

Qual é a importância da porção carboidrato da membrana plasmática se situar na parte externa da célula?

5. Transporte através das membranas

Devido à bicamada lipídica, as membranas biológicas são altamente impermeáveis às substâncias polares, carregadas ou não. Dessa forma, somente os hidrocarbonetos, gases neutros como o O_2 e o CO_2 conseguem transpor livremente à barreira hidrofóbica. A H_2O , apesar de sua natureza dipolo, também consegue atravessar a membrana. Antigamente, acreditava-se que esse era o único meio de transporte da água, mas, com a descoberta de canais aquosos em plantas e depois em animais, esse conceito foi revisto. Esses canais foram posteriormente denominados de aquaporinas.

Sabemos que a grande maioria de nutrientes que entram na célula, assim como os metabólitos que saem, são substâncias altamente polares e ge-

ralmente apresentam-se ionizadas no pH fisiológico. Além do mais, sabemos que a grande maioria das enzimas e até mesmo proteínas não enzimáticas precisam associar-se a íons para poderem exercer suas funções biológicas. Portanto, o transporte através das membranas ocorre de maneira versátil e altamente controlada.

Podemos dividir os tipos de transporte em duas formas principais: transporte passivo e transporte ativo (Figura 22).

Antes de prosseguir faça as seguintes reflexões:

- Como as substâncias polares atravessam as membranas?
- Como a célula consegue manter uma concentração diferente das substâncias no seu interior com relação ao meio circundante?

5.1. Transporte passivo

É o transporte que ocorre a favor de um gradiente eletroquímico, pelo qual a substância atravessa livremente a membrana em direção a uma menor concentração e uma carga líquida oposta à sua. Portanto, trata-se de um processo espontâneo, termodinamicamente favorável, o que significa que não é necessário adicionar energia ao sistema para que o transporte ocorra.

No entanto, esse transporte, também denominado difusão passiva, é restrito a poucos elementos. Portanto, as membranas desenvolveram um outro tipo de transporte passivo que utiliza proteínas transportadoras para facilitar a entrada ou a saída de substâncias polares das células. Esse transporte denominado difusão facilitada é regido pelas mesmas leis termodinâmicas da difusão simples, ou seja, as substâncias são transportadas a favor do seu gradiente eletroquímico. Dois tipos de proteínas transportadoras exercem essa função: as proteínas canais e as proteínas carreadoras.

5.2. Transporte ativo

É aquele que ocorre contra um gradiente eletroquímico e, portanto, necessita de energia adicionada ao sistema para poder realizar-se. Esse talvez seja o transporte mais comum através das membranas, pois embora, as células mantenham um equilíbrio dinâmico com a matriz extracelular, é notória a diferença entre a composição citosólica e a composição do ambiente onde a célula está inserida. Podemos citar como exemplo a concentração de sódio e de potássio dentro da célula animal. O sódio apresenta uma concentração bem inferior àquela da matriz circundante. Por sua vez, o potássio intracelular apresenta-se em um teor bem mais elevado que a concentração encontrada no meio externo.

A célula tem como característica mais marcante a manutenção da sua homeostase. Dessa forma, independente das inúmeras reações que ocorrem dentro e fora da célula e apesar das inúmeras trocas entre a célula e o seu meio ambiente, ela consegue manter-se estável em relação à concentração de seus constituintes, do seu pH e da sua temperatura. O transporte ativo é o principal responsável por essa incrível propriedade celular.

Podemos considerar dois tipos de transporte ativo: o primário e o secundário.

a) Transporte ativo primário

É exercido por proteínas transmembranares denominadas de bombas. Dessa forma, podemos citar aquelas melhores caracterizadas: a bomba de Na e K, as bombas de Ca^{2+} , as bombas de prótons e a bomba de H^+/K . Esse tipo de transporte se caracteriza principalmente pelo fato de essas bombas possuírem atividade ATP-ásica e, assim, utilizarem a energia do ATP para realizar o transporte. Existe uma bomba de prótons presente em uma arqueobactéria que utiliza a luz solar para fazer o transporte de prótons. Assim, essa bomba está associada a uma molécula fotossensora, similar à rodopsina presente nos bastonetes da retina, sendo por isso denominada de arqueorrodopsina.

A bomba de Na e K é inerente dos animais, encontrada na membrana plasmática de quase todas as células, transportando sódio para fora do citosol e potássio para dentro da célula.

As bombas de Ca^{2+} são mais diversificadas, podendo ser encontradas na membrana plasmática de vários organismos, nas cristas mitocondriais e no retículo endoplasmático não granuloso. Nesta última organela, ela exerce uma função bastante importante, já que o retículo funciona como um depósito de Ca^{2+} , e a regulação da concentração desse íon no citosol é fundamental para várias funções celulares, como a contração muscular, a secreção de substâncias e até mesmo na apoptose.

As bombas de prótons são certamente as bombas mais universais, sendo encontradas nos mais diversos organismos, procariotas e eucariotas. Dessa forma, a acidificação da rizosfera pelas bombas de prótons presentes nas células das raízes de plantas é de fundamental importância na absorção dos sais minerais, assim como as bactérias acidificam o meio ambiente para a obtenção de nutrientes.

No que concerne à bomba de H^+/K , ela se encontra principalmente na membrana plasmática das células parietais do estômago e são responsáveis pela acidificação do suco gástrico.

b) Transporte ativo secundário

Esse transporte tal qual o transporte ativo primário, é termodinamicamente desfavorável, ocorrendo contra um gradiente eletroquímico. No entanto, os transportadores não possuem atividade ATP-ásica e devem lançar mão de outro recurso para fazer o transporte. Citaremos como exemplo o transportador de glicose presente nas células epiteliais do intestino. Mesmo após um período de jejum, essas células necessitam absorver a glicose presente no lúmen intestinal, embora a concentração de açúcar no seu interior celular seja superior. Recordemos que a bomba de Na e K presente na membrana plasmática lança para fora das células íons Na^+ formando, assim, um gradiente entre o lúmen e o citosol.

A energia gasta pela quebra do ATP usado no transporte não foi desperdiçada, mas ela ficou armazenada na forma de energia potencial que mantém esses íons nessa condição adversa. O transportador de glicose possui, além do sítio de ligação para a glicose, um sítio para ligação com o Na^+ . Dessa forma, a glicose será transportada contra o seu gradiente de concentração utilizando a energia liberada pelo fluxo retrógrado do Na^+ a favor do seu gradiente eletroquímico. Assim, o transporte ativo secundário utiliza a energia armazenada pelo transporte ativo primário para realizar passagem de substância contra o seu gradiente de concentração.

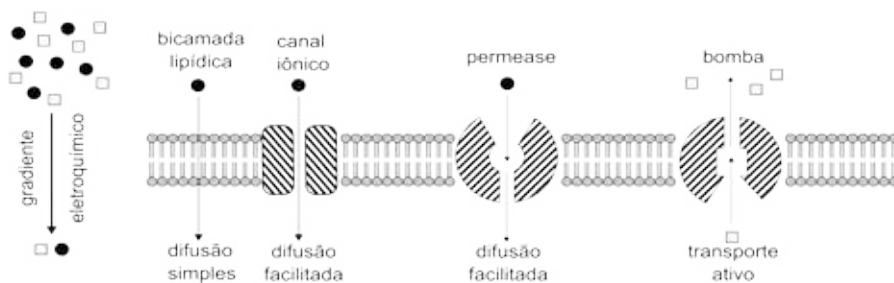


Figura 22 – Demonstração dos diferentes tipos de transportes que podem ocorrer nas membranas biológicas.

c) Transporte único

Nesse transporte, a proteína carreadora transporta um único tipo de substrato, que pode ser em qualquer direção (Figura 23).

d) Transporte duplo, cotransporte e contratransporte

No transporte duplo, a proteína carreadora pode transportar duas substâncias ao mesmo tempo. Quando as substâncias são transportadas em uma mesma direção, temos o cotransporte, normalmente denominado de simporte. No

caso de as substâncias serem transportadas em sentido inverso, temos o contratransporte ou antiporte (Figura 4.8).

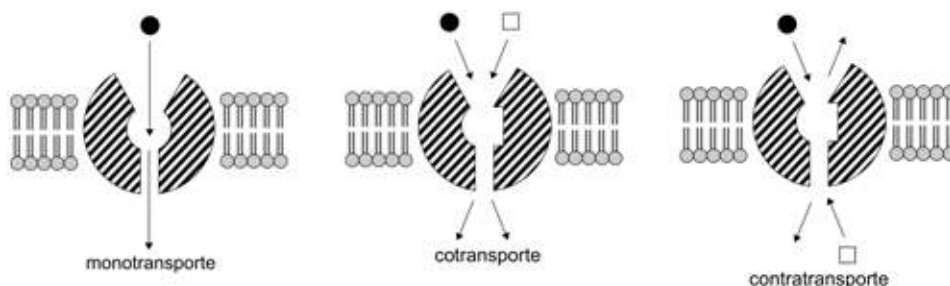


Figura 23 – Desenho esquemático do transporte único, cotransporte (ou simporte) e do contratransporte (ou antiporte).

Síntese do Capítulo



As membranas biológicas são compostas por uma bicamada de lipídios anfipáticos, proteínas e carboidratos ligados aos lipídios ou às proteínas. Os lipídios mais abundantes das membranas são os fosfoglicerolipídios, os esteróis e os esfingolipídios. Algumas proteínas atravessam toda a bicamada lipídica e são denominadas transmembranares.

Outras proteínas se encontram associadas às membranas de forma mais leve e são chamadas de proteínas periféricas. Devido ao fato das proteínas e lipídios se associarem através de interações fracas, como as interações eletrostáticas e as hidrofóbicas, eles possuem um grau de liberdade que os permite se movimentarem lateralmente. Essas propriedades deram a esse modelo das membranas a denominação de mosaico fluido.

A membrana possui várias funções importantes na célula, sendo a maioria exercida pelas suas proteínas. Mas de todas as funções, a mais importante é a manutenção da homeostase celular. A capacidade da célula de manter o seu equilíbrio dinâmico com o meio externo é devido principalmente aos diferentes tipos de transporte que existem em suas membranas.

Dessa forma, existe o transporte passivo que ocorre a favor de um gradiente eletroquímico, sendo, portanto, um processo espontâneo, e o transporte ativo, que é realizado contra o gradiente de concentração, necessitando, portanto de energia para ocorrer. O transporte passivo de substâncias pode ocorrer diretamente através da bicamada lipídica. No entanto, ele é restrito às substâncias de natureza lipídica, os gases neutros como o O_2 e a água.

O transporte passivo através das proteínas transportadoras recebe a denominação de “difusão facilitada”. O transporte ativo primário é realizado através de bombas que possuem atividade ATPásica, sendo então o ATP a fonte de energia para a realização do processo. Já o transporte ativo secundário utiliza a energia potencial dos gradientes de íons formados pelas bombas primárias para realizar os seus transportes.

Atividades de avaliação



1. Considerando que os procaríotas não possuem esteróis em suas membranas, como eles regulam a fluidez face às mudanças de temperatura no meio?
2. Se a bomba de Na e K invertesse a direção desses transportadores, o que aconteceria com as concentrações dos mesmos dentro e fora das células?
3. Qual foi a importância do aparecimento do transporte ativo na evolução celular?
4. Cite um exemplo de uma cadeia de reações que ocorre na membrana.
5. Como a célula consegue manter a concentração de íons no seu interior diferente daquela do meio externo se na membrana existe canais que transportam passivamente esses íons?

Referências



- ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.
- DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**. 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.
- LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora: FREEMAN. 2008.

Capítulo

5

Citoesqueleto

Objetivos

- Reconhecer a importância do citoesqueleto na morfologia celular e na sua integração com as células vizinhas.
- Identificar os diferentes filamentos proteicos que compõem o citoesqueleto.
- Distinguir as diferentes funções exercidas pelo citoesqueleto.
- Conhecer as proteínas motoras e a importância delas no transporte intracelular e nos processos contráteis.

Introdução

Você já deve ter observado que as células dos diferentes tecidos apresentam formas bastante variadas. Dessa maneira, temos aquelas células de morfologia mais simples, como os linfócitos, que apresentam uma forma esférica e um grande núcleo arredondado que preenche quase todo o citoplasma. Os monócitos são similares aos linfócitos, mas apresentam um núcleo que lembra uma ferradura.

Temos outras células mais complexas, como as dendríticas, que se apresentam sob uma forma estrelada com bastantes dendritos responsáveis pela denominação do seu nome. Isso sem mencionar o neurônio, que, além de apresentar um corpo repleto de projeções dendríticas, ainda possui uma grande extensão denominada axônio. Por último, poderíamos mencionar a forma bicôncava das hemácias dos mamíferos, que são desprovidas de núcleo. Considerando que todas as membranas são dotadas das mesmas características físicoquímicas, qual seria a força detentora de tantas mudanças nas formas celulares?

Na realidade, todas as células eucarióticas são portadoras de uma intrincada rede de filamentos proteicos que, além de assegurarem a forma ou as mudanças de forma das células, exercem várias outras funções importantes, como o transporte intracelular de substâncias e alguns processos contráteis. E esse sistema complexo de filamentos foi denominado de “citoesqueleto”.

Os filamentos proteicos que constituem o citoesqueleto foram classificados em três categorias de acordo com a espessura de cada um; assim, tem-se os macrofilamentos, cujo diâmetro é de 20 nm; os microfilamentos, cuja espessura gira em torno de 7 nm e os filamentos intermediários, que atingem 10 nm de diâmetro (Figura 24).

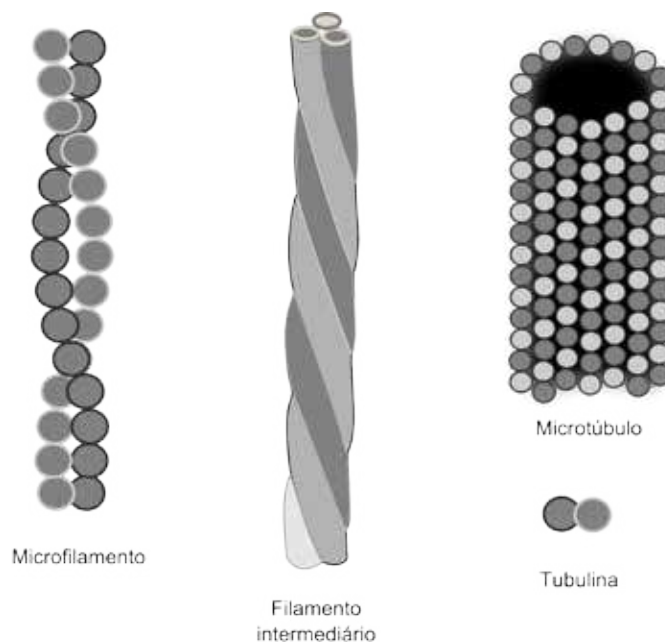


Figura 24 – Diferentes filamentos que compõem o citoesqueleto (microtúbulos, filamentos intermediários e filamentos de actina).

1. Macrofilamentos

Os macrofilamentos são formados por microtúbulos. Você já deve ter ouvido falar que o fuso mitótico, os centríolos, os cílios e os flagelos eram formados por microtúbulos, mas certamente não detinha conhecimento de mais esta função dessa estrutura.

Os macrofilamentos são formados em uma região próxima ao núcleo denominada de centrossomo e crescem radialmente em direção à membrana plasmática. Nessa região se localiza também o par de centríolos presentes nas células animais. Os microtúbulos são formados por dois tipos de proteínas pertencentes a uma mesma família: as α e β -tubulinas. Estas são proteínas globulares que ficam situadas no citosol, onde se reúnem para formar os dímeros de α e β -tubulinas. No centrossomo um outro tipo de tubulina a γ -tubulina se associa a mais doze unidades, formando um anel de treze γ -tubulinas, que servirá de base ou molde para a formação dos microtúbulos (Figura 25).

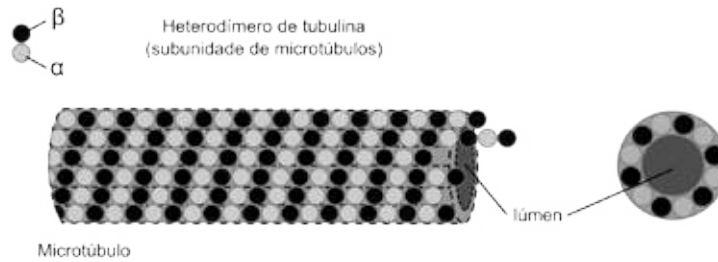


Figura 25 – A estrutura do microtúbulo e o dímero formado pelas proteínas α e β -tubulina.

Os dímeros de α e β -tubulinas se associam às γ -tubulinas e assim inicia-se o processo de polimerização dos protofilamentos. Cada dímero de α e β -tubulina está ligado covalentemente a uma molécula de GTP⁶. Essa ligação permite que um dímero se ligue ao outro dímero, ou seja, aumenta a afinidade de um dímero com o outro. Paradoxalmente, a ligação entre os dímeros provoca a hidrólise do GTP, ficando o dímero ligado ao GDP⁷, o que diminui a afinidade entre eles. No entanto, a chegada de um novo dímero ligado ao GTP impede a despolimerização do microtúbulo em formação. Portanto, é necessário o acoplamento de um novo dímero antes que haja a hidrólise do GTP. A esse processo denominamos de “instabilidade dinâmica dos microtúbulos”.

Se isolarmos um microtúbulo do centrosomo, veremos que existe uma extremidade onde tanto o processo de polimerização como a despolimerização ocorrem em uma velocidade maior que na outra extremidade. Portanto, esse lado do microtúbulo ficou sendo conhecido como extremidade mais (+), sendo que o outro lado foi denominado como extremidade menos (-). Essa polaridade dos microtúbulos é reconhecida pelas proteínas que se associam a ele, existindo tipos de proteínas que têm preferência pela extremidade (+) e outras que têm preferência pela extremidade (-).

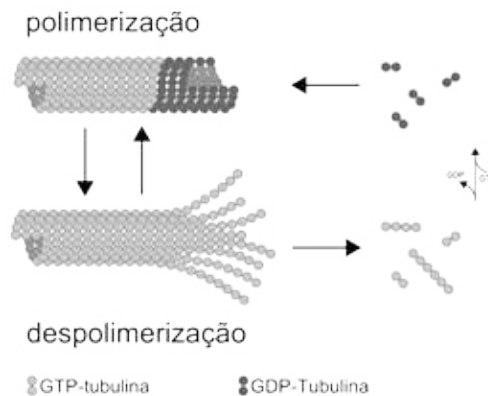


Figura 26 – A instabilidade dinâmica dos microtúbulos é regulada pela hidrólise do GTP.

⁶Guanosina trifosfato. Libera grande quantidade de energia livre quando seu radical fosfato terminal é hidrolisado. Tem importante papel na propagação intracelular de sinais químicos recebidos pela membrana plasmática.

⁷Guanosina difosfato.

Os microtúbulos são importantes ferramentas no transporte intracelular de vesículas e de organelas. Eles servem de trilhas onde proteínas motoras se deslizam transportando para regiões muitas vezes distantes vesículas recém-formadas. É o que ocorre com as vesículas contendo os neurotransmissores. Elas são formadas no corpo do neurônio, mas precisam ser transportadas até a extremidade do axônio para serem liberadas nas sinapses.

As proteínas motoras que se ligam aos microtúbulos são a cinesina e a dineína. Essas proteínas apresentam similaridades na sua estrutura. Ambas são formadas por duas subunidades iguais, sendo que cada subunidade possui uma porção globular ou cabeça, que se associa ao microtúbulo e uma porção fibrosa, que se liga à vesícula ou organela que vai ser transportada. Essas proteínas apresentam atividade ATP-ásica em suas cabeças, sendo que a quebra do ATP é a força motora do transporte.

As proteínas motoras se movem em direções opostas ao longo dos microtúbulos, sendo que a dineína se move da extremidade (+) em direção à extremidade (-), e a cinesina se movimenta da extremidade (-) para a extremidade (+).

A movimentação das organelas dentro do citoplasma é importante no processo de homogeneização do citosol e é responsável pelo movimento de cílios.

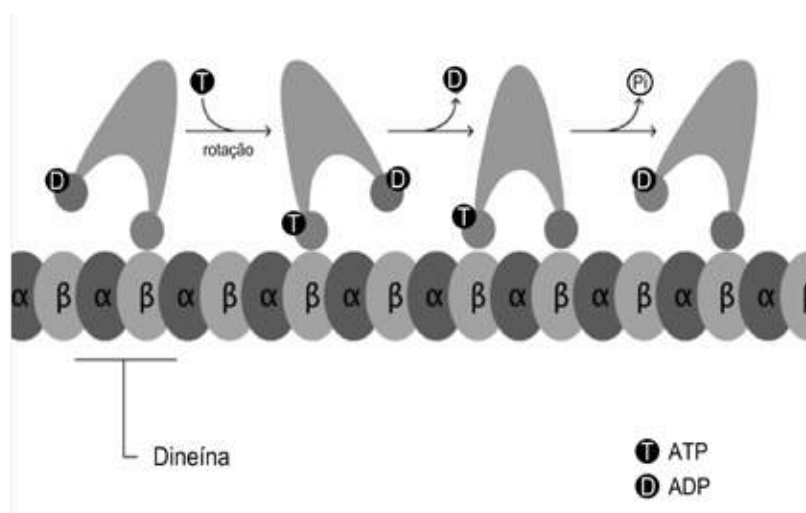


Figura 27 – A proteína motora dineína transportando vesículas ao longo do microtúbulo.

2. Centríolos e corpúsculos basais

Como mencionado no tópico anterior, os microtúbulos fazem parte de outras estruturas importantes além do citoesqueleto. Dentre essas, podemos citar os centríolos, corpúsculos basais, cílios e os flagelos.

Os centríolos são formados por nove tríades de microtúbulos conjugados, ou seja, apresentando três protofilamentos em comum para os microtú-

bulos (Figura 28). Os centríolos, embora apareçam como uma estrutura tubular oca, contêm em seu interior várias substâncias diferentes, dentre elas muitas proteínas. Eles se encontram sempre em dupla formando um ângulo de noventa graus entre si.

Durante muito tempo, imaginou-se que os centríolos estariam envolvidos na divisão celular devido a sua presença no centrossomo, onde o fuso mitótico é formado a partir dos microtúbulos. No entanto, a ausência dessas estruturas nos vegetais superiores mudou a maneira de pensar dos geneticistas, uma vez que as células vegetais conseguem formar seu fuso mitótico sem a presença dos centríolos.

A formação dos centríolos também ainda é enigmática. Sabemos que cada centríolo direciona a formação do outro centríolo, que será formado respeitando a posição inicial, ou seja, mantendo-se transversal ao centríolo pré-existente.

Os corpúsculos basais são exatamente iguais aos centríolos e existe a hipótese de que eles são formados a partir dos mesmos. No entanto, eles não se encontram no centrossoma, como os centríolos, mas logo abaixo da membrana plasmática onde serão formados os cílios e os flagelos. Os corpúsculos basais servem de base para a montagem dessas estruturas.

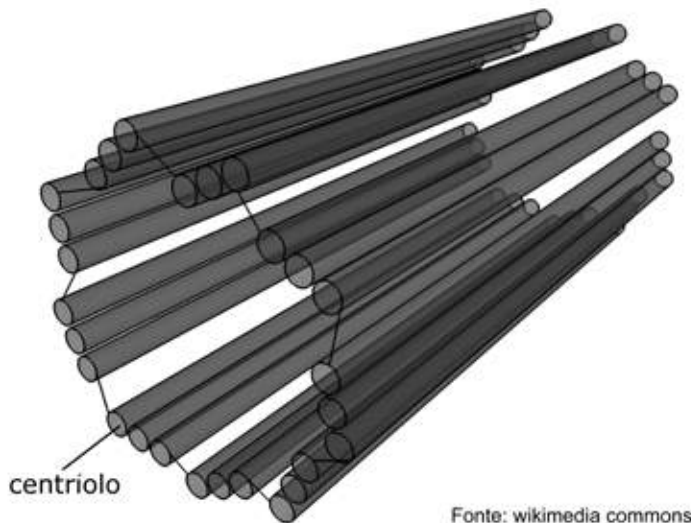


Figura 28 – Representação de um centríolo evidenciando as nove tríades de microtúbulos.

3. Cílios e flagelos

Embora os cílios e os flagelos tenham funções diferentes, eles são formados exatamente da mesma maneira, possuindo uma estrutura central denominada de axonema, envolvida pela membrana plasmática da célula.

Como dito anteriormente, o axonema é montado tendo como base os corpúsculos basais. Ele é formado por nove pares de microtúbulos radiais e um par de microtúbulo central (Figura 29). Os microtúbulos radiais são conjugados contendo três protofilamentos em comum. Os pares de microtúbulos são ligados entre si através de várias moléculas da proteína nexina que se distribuem ao longo dos microtúbulos. Outra proteína importante que se liga aos pares de microtúbulos é uma isoforma da dineína. Essa proteína é responsável pela movimentação dos cílios e dos flagelos. As proteínas radiais ligam os pares de microtúbulo ao par central. Este é envolvido por uma bainha proteica e não se encontra conjugado.

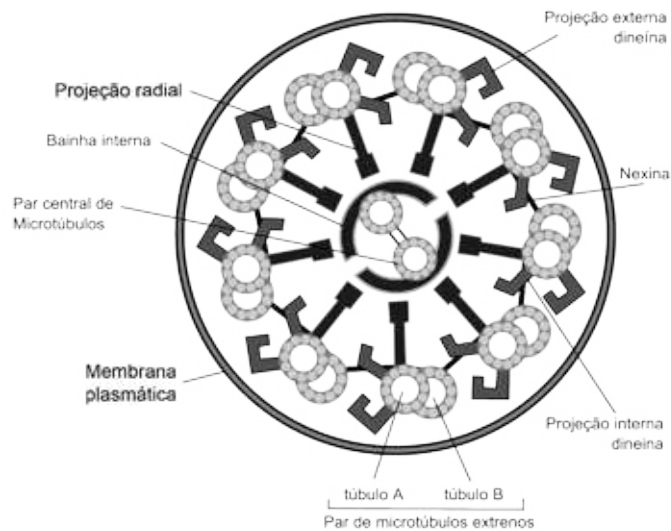


Figura 29 – Representação esquemática do axonema que forma os cílios e os flagelos dos eucariotas.

As principais diferenças entre os cílios e os flagelos são: o número, o tamanho e a função. Os cílios são mais numerosos, podendo existir milhares em uma célula, mas, em compensação, são bem menores que os flagelos. Os flagelos, por sua vez, são mais longos, mas se apresentam sempre em pequeno número, chegando a um máximo de oito nos protozoários do gênero *Trychomonas*. Nos eucariotas pluricelulares, normalmente eles são encontrados apenas nos gametas masculinos, sendo que nos animais esse número não ultrapassa um flagelo por gameta.

A movimentação dos cílios e flagelos se deve à presença das moléculas de dineína acopladas pela sua porção fibrosa aos pares de microtúbulos. As cabeças com atividade ATP-ásicas se ligam às tubulinas dos pares que se encontram à frente. Através de um processo semelhante ao transporte das

vesículas, elas tentam movimentar os microtúbulos. No entanto, a presença da nexina ao longo desses microtúbulos barra esse movimento, o que causa uma força de tração ao longo do axonema, que voltando ao seu estado normal provoca o movimento ondulatório dos cílios e flagelos. A Figura 30 representa o mecanismo desse movimento.

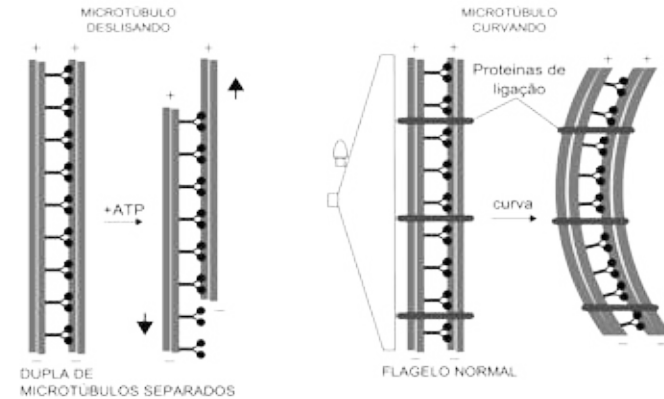


Figura 30 – Movimento dos flagelos devido à presença de dineína ligada aos seus microtúbulos. A nexina impede o deslocamento do par anterior provocando uma envergadura no axonema. A figura à esquerda mostra como seria o movimento na ausência de nexina.

4. Fuso mitótico

Durante a divisão celular, o citoesqueleto começa a sofrer um processo de desmembramento, e os dímeros de tubulina vão agora serem recrutados para a formação das fibras do fuso mitótico. Portanto, ainda durante a interfase, após a duplicação dos centrossomos, haverá a montagem dos microtúbulos como relatado anteriormente, mas desta feita os microtúbulos irão formar as fibras do fuso, ou seja, as fibras de âster, as fibras polares e as fibras cinetocóricas.

5. Microfilamentos

Os microfilamentos são formados por dois protofilamentos de um tipo de proteína também globular: a actina. Esses protofilamentos se encontram torcidos um sobre o outro e, como já mencionado, apresenta um diâmetro de 7 nm.



Figura 31 – Os microfilamentos de actina são formados por dois protofilamentos em forma de um torçal.

⁸ATP: adenosina trifosfato. Molécula constituída por ribose, adenina e três grupos fosfato. É a principal fonte de energia química livre para uso imediato pelas células.

Os filamentos de actina começam a ser formados no citoplasma, não existindo uma região específica para isso. Portanto, em qualquer região, três monômeros de actina podem unir-se formando um centro de nucleação. A partir desse centro de nucleação, começam a ser incorporados novos monômeros de actina. Como no caso dos dímeros de tubulinas, a actina globular também se encontra ligada covalentemente a um nucleotídeo, sendo que neste caso temos o ATP⁸ ao invés do GTP.

Portanto, a instabilidade dinâmica descrita na formação dos microtúbulos também se aplica à formação dos microfilamentos. Desse modo, uma actina precisa estar ligada ao ATP para ser integrada ao protofilamento em formação. Entretanto, essa ligação provoca a hidrólise do ATP, diminuindo a afinidade entre os monômeros de actina. Portanto, é necessário que uma actina ligada a um ATP seja incorporada antes que o ATP da actina anterior sofra hidrólise. A figura 32 mostra a formação do centro de nucleação.

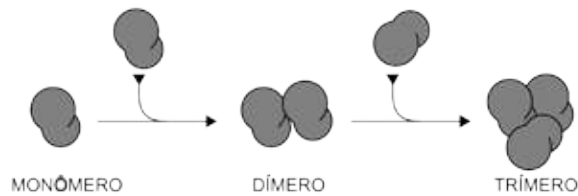


Figura 32 – Formação de um centro de nucleação.

Os filamentos de actina se distribuem de formas variadas dentro da célula e, como ocorrem para os microtúbulos, esses filamentos estão envolvidos na formação de várias estruturas celulares, principalmente naquelas estruturas relacionadas com o processo de contração celular.

Os microfilamentos podem estar arrançados em forma de feixes ou ligados transversalmente, formando redes que atravessam todo o citoplasma celular. Esses arranjos dependem das proteínas que se ligam aos microfilamentos. Dessa forma, existe, por exemplo, a fodrina que liga um filamento a outro formando feixes, enquanto a filamina liga os microfilamentos de forma transversal.

Os filamentos de actina se dispõem logo abaixo da membrana plasmática formando o córtex celular. Eles se ligam à membrana plasmática através de proteínas periféricas que por sua vez se ligam às proteínas transmembranares

5.1. Funções dos microfilamentos

Os filamentos de actina estão implicados em várias funções importantes das células. Além de formar o córtex celular, esses filamentos servem como base para a formação das microvilosidades presentes em células de alto poder absoritivo. Eles são também a base de formação do cinto adesivo que liga as células de um tecido entre si e com a matriz extracelular, como veremos na unidade 6.

Outra função importante dos filamentos de actina consiste no movimento intracelular de organelas e vesículas através da ligação com proteínas motoras. Mas esses filamentos são responsáveis também pelo movimento celular do tipo ameboide sobre outras células ou sobre o substrato da matriz extracelular. Esse movimento é realizado pela formação de projeções do tipo filopódio ou lamelo-pódio formados pela polimerização da actina próxima a membrana plasmática, onde ela se liga às proteínas da matriz extracelular através das proteínas periféricas e integrais da membrana plasmática.

Os filamentos de actina como mencionado anteriormente são responsáveis pelos processos de contração celular, inclusive a formação do anel contrátil na citocinese.

5.2. Proteínas motoras que se ligam à actina

Existe uma família de proteínas motoras que se ligam aos microfilamentos; são as miosinas I, II, III, IV e V. Essas proteínas estão implicadas nos processos de transporte intracelular e nos processos de contração.

As miosinas diferem quanto à forma e a função, mas todas possuem uma cauda fibrosa e uma cabeça globular com atividade ATP-ásica, que possui afinidade pela actina.

No transporte intracelular, a miosina do tipo I e a do tipo V ligam-se às organelas pela porção caudal e as transporta ao longo dos filamentos de actina através de ciclos de ligação e desligamento da cabeça da miosina com os microfilamentos.

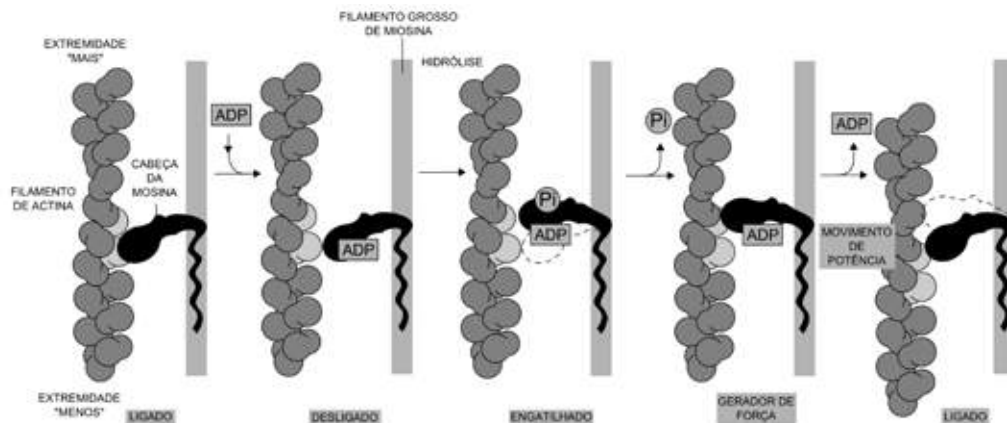


Figura 33 – Mecanismo molecular de ligação entre a actina e a miosina.

A miosina do tipo II forma o anel contrátil no final da divisão celular juntamente com os filamentos de actina sob a membrana plasmática na região equatorial da célula. Esse tipo de miosina também participa na formação das fibras tensoras e dos sistemas contráteis das células do músculo estriado esquelético, músculo estriado cardíaco e músculo liso.

A Figura 33 demonstra o mecanismo pelo qual as cabeças de miosina deslizam através dos filamentos de actina. Note que, a cada movimento uma molécula de ATP é quebrada, uma vez que a miosina apresenta atividade ATPásica tal qual as enzimas motoras cinesina e dineína. Podemos resumir o processo de movimentação da seguinte forma: quando a molécula de ATP se liga ao seu sítio presente na cabeça da miosina, essa perde afinidade pela actina.

Em seguida, ocorre o processo de hidrólise do ATP, sendo que a molécula de ADP fica ligada à miosina, mudando então sua conformação. Uma vez que o ATP foi liberado, a miosina volta a se ligar a actina, mas em outro sítio. Quando o ADP é finalmente liberado, a miosina volta à sua conformação inicial e recomeça um novo ciclo.

6. Mecanismo de contração do músculo estriado esquelético

Uma função primordial dos filamentos de actina consiste no processo de contração muscular em que esses filamentos são os principais componentes das unidades contráteis das musculaturas lisa e estriada. No nosso estudo, nos deteremos no processo de contração das células dos músculos esqueléticos estriados que eram denominadas antigamente de fibras musculares. Essas células são bastante longas e resultam da fusão de várias células, sendo, portanto, um sincício e em consequência disso é polinucleada. Elas se encontram unidas pelo tecido conjuntivo formando grandes músculos que se conectam aos ossos através dos tendões.

Observando o interior dessas células, veremos que ela é constituída por várias miofibrilas, e cada miofibrila é formada por uma sequência de unidades contráteis denominadas de sarcômeros. A Figura 34 demonstra a estrutura do sarcômero. Dessa forma, podemos observar que ele é constituído por filamentos de actina que se prendem a proteínas inclusive a desmina, que faz parte dos filamentos intermediários. Essas proteínas encontram-se organizadas em uma estrutura denominada de linha Z.

A formação dos filamentos de miosina começa a partir da polimerização de duas moléculas de miosina do tipo II através da sua porção fibrosa, ficando, portanto, as cabeças globulares livres. Essas moléculas possuem uma porção caudal bem maior que a miosina do tipo I. Vários dímeros começam a se polimerizar, sempre pelo contato entre as regiões fibrosas. É interessante notar que essa polimerização acontece nos dois sentidos e assim teremos filamentos de miosina com a cabeça voltada para a esquerda e filamentos de miosina com as cabeças voltadas para a direita.

O processo de contração se dá quando essas cabeças se deslizam sobre os sítios de ligação para a miosina presente na actina. Como você pode observar, o processo de contração aproxima os filamentos de actina levando a um encurtamento do sarcômero. Esse processo acontece de forma simul-

tânea e extremamente regulada em todas as miofibrilas, bem como em todas as células que compõem o músculo.

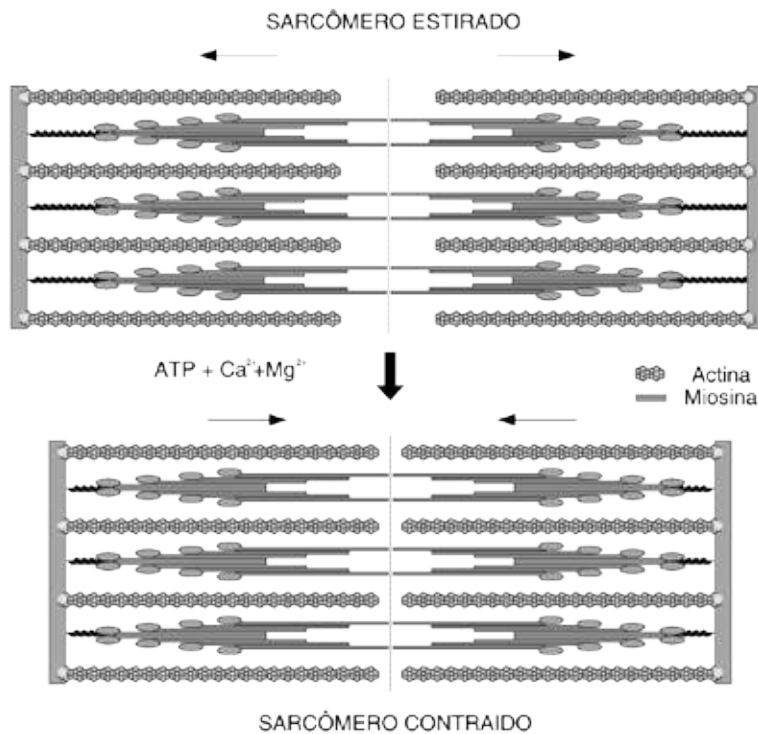


Figura 34 – Estrutura de um sarcômero e o processo de contração muscular.

7. Filamentos intermediários

Os filamentos intermediários diferem dos macro e das microfilamentos em dois aspectos fundamentais: eles são formados por proteínas fibrosas em vez das proteínas globulares que formam os filamentos estudados anteriormente e essas proteínas variam de acordo com os tecidos, existindo, pelo menos, seis tipos de filamentos intermediários.

Filamentos de queratina ou tonofilamentos são encontrados principalmente nos epitélios e endotélios, tecidos que estão sujeitos a grandes pressões. Como o próprio nome indica, são constituídos pela proteína queratina e são os mais resistentes. Eles se encontram normalmente associados aos desmossomos e aos hemidesmossomos.

Filamentos de desmina são encontrados no citoplasma de todas as células musculares, associadas às miofibrilas das células musculares esqueléticas e aos desmossomos dos discos intercalares nas células cardíacas.

Filamentos de vimentina apresentam um aspecto ondulado e são encontrados nas células embrionárias. Nos indivíduos adultos, podem ser encontrados em células de origem mesodérmica, como as células sanguíneas e os fibroblastos.

Neurofilamentos são encontrados nos neurônios que, conferem a essas células suas estruturas características, como a formação dos dendritos e o axônio.

Filamentos gliais encontram-se principalmente no citosol dos astrócitos e oligodendrócitos.

Por fim, laminofilamentos que formam a lâmina nuclear do núcleo interfásico sendo constituído pelas proteínas denominadas laminas A, B e C.

7.1. Montagem dos filamentos intermediários

As proteínas que compõem os filamentos intermediários possuem uma extensa região central fibrosa e são ligeiramente globulares tanto na região amino-terminal (N) como na região carboxiterminal (C).

Para compor um filamento, primeiramente as proteínas se juntam formando um dímero paralelo, no mesmo sentido, ou seja, a região N-terminal de uma proteína alinha-se com a região N-terminal da outra molécula. Em seguida, os dímeros se combinam de forma antiparalela para formar os tetrâmeros. Por sua vez, os tetrâmeros se ligam pelas suas extremidades formando os protofilamentos. Finalmente, oito protofilamentos se unem originando o filamento intermediário de 10 nm de diâmetro.

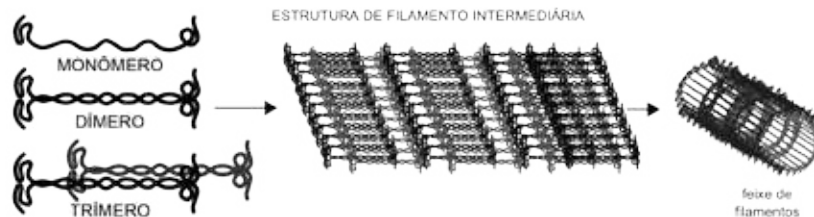


Figura 35 – Formação dos filamentos intermediários a partir de proteínas fibrosas.

Síntese do Capítulo



O citoesqueleto consiste em um conjunto de filamentos de proteínas que confere sustentação e forma as células. Ele é formado por três tipos de filamentos que são classificados de acordo com a sua espessura. Dessa forma, temos os macrofilamentos cujo diâmetro é em torno de 22 nm; os filamentos intermediários possuem um diâmetro de 10 nm e os microfilamentos de 7 nm.

Os macrofilamentos são formados por microtúbulos, que consistem em doze protofilamentos de dímeros de tubulina. Eles são montados em uma região próxima ao núcleo, o centrossomo, e crescem radialmente em direção à membrana plasmática. Além do citoesqueleto, os microtúbulos formam outras

estruturas, como o axonema dos cílios e flagelos, os centríolos, os corpúsculos basais e o fuso mitótico. Existem duas proteínas motoras, a cinesina e a dineína, que transportam vesículas e organelas ao longo dos microtúbulos.

Os filamentos intermediários são formados por proteínas fibrosas que se polimerizam formando as fibras. Existem seis tipos de filamentos intermediários: os tonofilamentos formados pela proteína queratina, sendo os filamentos mais abundantes; os filamentos de desmina; os filamentos de vimentina; os neurofilamentos; os filamentos gliais e os laminofilamentos, presentes no interior do núcleo. Os filamentos intermediários são os principais responsáveis pela resistência do tecido às pressões devido ao seu envolvimento na formação da estrutura de adesão celular, conhecida como desmossomo.

Os microfilamentos consistem de dois protofilamentos formados pela proteína globular, actina. Eles existem em forma de feixes compondo o córtex celular e dando sustentação às microvilosidades. Mas eles podem estar entrelaçados como uma teia atravessando todo o citoplasma. Tal qual ocorre com os macrofilamentos, uma proteína motora também se associa aos microfilamentos. Essa proteína é a miosina, a qual apresenta várias isoformas. Dentre essas, encontra-se a miosina II, responsável pela formação da unidade contrátil das células musculares. Além de estarem envolvidos nos vários processos contráteis da célula, os microfilamentos estão também associados às junções adesivas, formando o cinturão de adesão. Os microfilamentos são ainda responsáveis pelo deslocamento das células na matriz extracelular ou sobre a superfície de outra célula.

Atividades de avaliação



1. Estabeleça um paralelo entre os diferentes filamentos.
2. Qual é a importância dos filamentos de actina nos processos de contração celular?
3. Como ocorre o processo de deslocamento de uma célula na matriz extracelular?
4. Qual é a importância do movimento de ciclose para a célula?
5. Na síndrome de Kartagener, o indivíduo nasce com um defeito na produção da proteína motora dineína. O portador dessa síndrome apresenta facilidade para contrair infecções respiratórias e normalmente são estéreis. Explique a razão destes sintomas.
6. Uma certa droga impede a polimerização dos monômeros de actina. Considerando a divisão celular em animais, onde esta droga interveria?

7. Explique a importância dos filamentos intermediários em tecidos submetidos à intensa força de tração.

Referências



- ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.
- DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos. 2005.
- LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.

Capítulo

6

Estruturas de adesão celular

Objetivos

- Reconhecer as moléculas de adesão celular (CAM) e sua importância na ligação entre células para a formação dos tecidos.
- Estudar as estruturas formadas pelas proteínas de adesão com ênfase na função que cada uma delas exerce dentro da célula.

Introdução

Nos organismos pluricelulares, as células não se encontram isoladas. Elas se reúnem para formar os tecidos, que, por sua vez, se unem de maneira ordenada formando todos os órgãos do indivíduo.

A união de células de um mesmo tecido ou de tecido diferente ocorre devido à presença de proteínas transmembranares, também conhecidas como proteínas de adesão celular (CAM). No entanto, essas ligações são frágeis e temporárias, não sendo suficiente para o estabelecimento dos tecidos.

A formação dos tecidos ocorre devido à presença de estruturas transmembranares, formadas pelas membranas plasmáticas de células vizinhas, sendo que algumas dessas estruturas estão ligadas ao citoesqueleto e outras formam canais de comunicação entre as células.

1. Proteínas de adesão celular (CAM)

As células se ligam primeiramente através de proteínas transmembranares, chamadas de moléculas de adesão celular ou proteínas CAM (*cell adhesion molecule*). Essas proteínas são encontradas nas mais diferentes células e pode diferir dependendo do tecido. Assim, por exemplo, temos as L-CAM encontradas nos hepatócitos, as N-CAM encontradas nos neurônios e as Ig-CAM encontradas em alguns outros tipos de células.

As CAM são muito importantes durante a embriogênese, quando as células começam a se diferenciarem e se deslocarem para a posição correta que ocuparão nas etapas posteriores de formação do embrião.

Existem proteínas CAM que, para se reconhecerem e se ligarem, necessitam da presença do cálcio, que funciona como uma ponte entre as duas proteínas. Essas proteínas são denominadas de caderinas.

As CAM se ligam apenas por interações fracas, como pontes de hidrogênio e outras interações eletrostáticas. Portanto, mesmo considerando a grande especificidade dessas ligações, podemos presumir que, feitas de forma isolada, elas não são fortes o suficiente para suportarem as forças de tração às quais os tecidos estão sujeitos, principalmente aqueles epitélios de revestimento que são submetidos aos movimentos peristálticos.

Mas as células desenvolveram mecanismos para transpor esses obstáculos, assegurando a integridade dos tecidos. Portanto, a associação das membranas de duas células vizinhas é reforçada pela formação de junções celulares denominadas de estruturas de adesão celular. Essas estruturas podem ser diferenciadas em três tipos: de oclusão, de ancoragem e de comunicação.

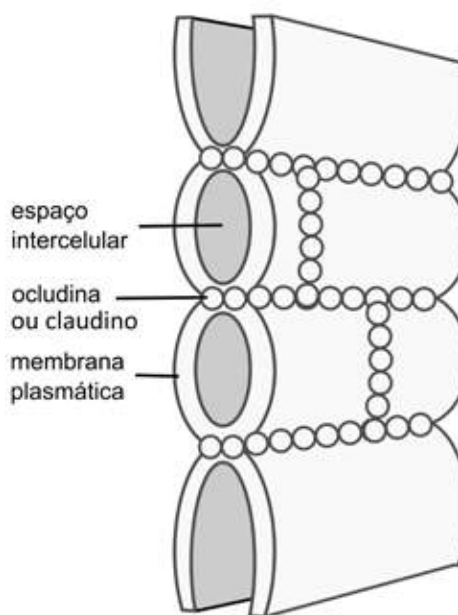


Figura 36 – Zona de oclusão unindo a parte superior de duas células epiteliais.

2. Zona de oclusão

A zona de oclusão é formada por dois tipos de proteínas CAM: as claudinas e as ocludinas (Figura 36). Essas proteínas são encontradas na parte apical das membranas plasmáticas, principalmente nas células dos epitélios de revestimento. Elas se distribuem em fileiras verticais e horizontais e se ligam fortemente com suas correspondentes nas membranas das células vizinhas. A zona de oclusão desempenha papel importante no processo seletivo de absorção de nutrientes, bem como na manutenção dos gradientes eletroquímicos formados entre as membranas celulares e o meio extracelular e que são fundamentais para o transporte ativo secundário.

3. Junção adesiva

A junção adesiva é formada por CAMs do tipo caderinas. Ela se situa normalmente abaixo da zona oclusiva e, ao contrário desta, forma estruturas focais espaçadas na região apical das células (Figura 37). As caderinas de uma célula se ligam às caderinas da membrana plasmática de outra célula na parte externa, sendo que, na parte interna, elas se ligam aos microfilamentos do citoesqueleto.

Esses filamentos de actina se encontram em forma de feixe logo abaixo da membrana plasmática. Algumas proteínas, como a α e β -catenina, a placcogobina e a α -actinina fazem a ligação ente as caderinas e os microfilamentos. Essa estrutura forma, na parte interna da célula, uma estrutura similar a um cinto, sendo por isso denominada de cinturão adesivo ou cinto de adesão.

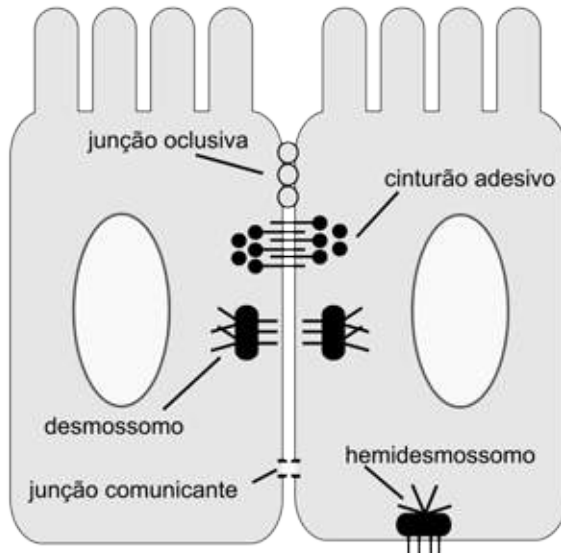


Figura 37 – Junção adesiva e filamentos de actina formando o cinto de adesão.

4. Desmossomo

O desmossomo é a estrutura mais bem definida do ponto de vista morfológico e corresponde também à mais resistente das estruturas de adesão celular (Figura 38). É formado por várias caderinas que como dito anteriormente para a junção adesiva, se ligam às caderinas, da membrana plasmática da célula vizinha. As caderinas também se ligam aos filamentos do citoesqueleto, só que nesse caso trata-se dos filamentos intermediários.

As proteínas que ligam as caderinas ao citoesqueleto formam uma estrutura bem definida em forma de disco, denominada de placa discoidal. Entre as caderinas, podemos destacar a desmogleína, responsável por uma doença autoimune chamada pênfigo. Nesse caso, o indivíduo forma anticorpos contra essas

caderinas, o que enfraquece a ligação com as desmogleínas da célula vizinha, formando assim um desmossomo frágil. Esses indivíduos costumam apresentar bolhas na pele devido ao extravasamento do líquido intersticial, como resultado do rompimento dos desmossomos presentes nas células da epiderme.

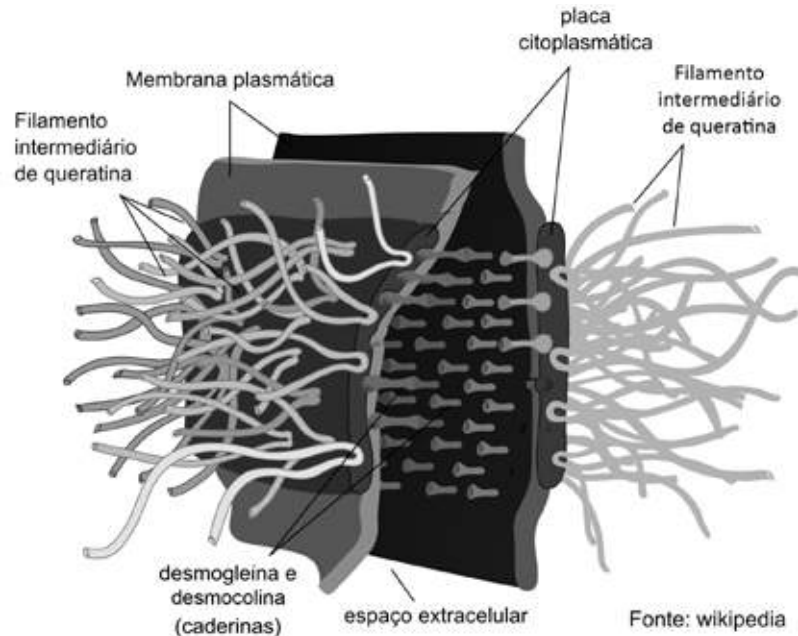


Figura 38 – Desmossomo apresentando as caderinas, a placa discoidal e os filamentos intermediários.

4.1. Hemidesmossomo

O hemidesmosso é a principal forma de interação da célula com a lâmina basal, através de ligações entre as caderinas e as proteínas da matriz extracelular. Do lado interno da célula, as caderinas estão ligadas aos filamentos intermediários por meio da placa discoidal, tal qual o desmossomo, daí a denominação de hemidesmosso.

5. Junções em fenda

As junções comunicantes ou junções em fenda são pequenos canais de comunicações entre células vizinhas de um mesmo tecido (Figura 6.4). Elas são formadas por conéxons. Cada conéxon corresponde a um canal formado por seis unidades de uma mesma proteína: a conexina. Quando dois conéxons se ligam, formam a junção comunicante.

A conexina existe em duas conformações diferentes que interferem com a abertura do canal. Dessa forma, a junção comunicante pode-se encontrar formando um orifício cujo diâmetro corresponde a 1,5 nm ou então em uma for-

ma totalmente fechada. Considerando o diâmetro da junção, apenas pequenas moléculas atravessam o canal, não ocorrendo, assim, a passagem de macromoléculas o que poderia comprometer a identidade celular.

A troca de metabólitos é importante principalmente, quando se trata de mensageiros secundários. Dessa forma, nucleotídeos como o cAMP e o cGMP podem ser transmitidos entre as células amplificando, dessa forma, a resposta a um sinal extracelular.

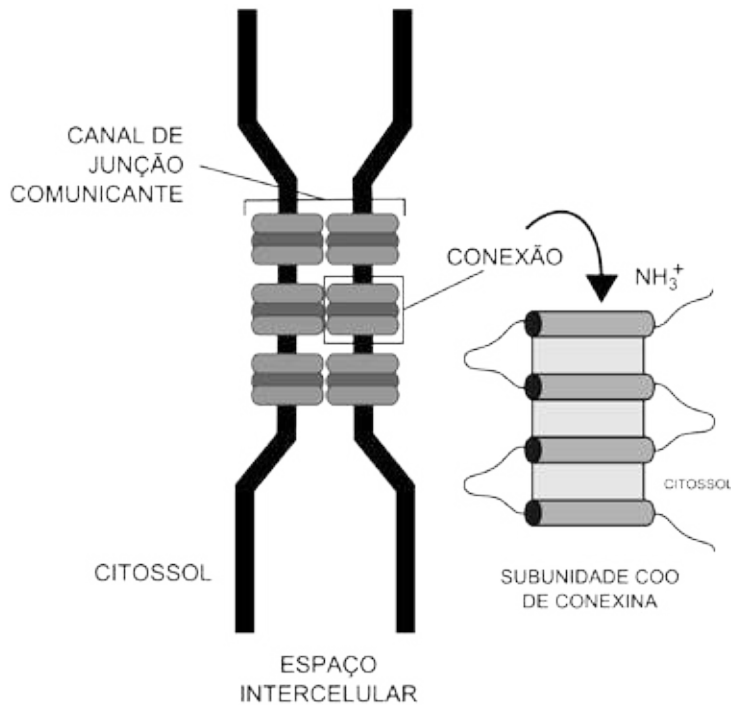


Figura 39 – Junções em fenda ou junção de comunicação.

Para refletir

Você seria capaz de fazer uma maquete das estruturas de adesão celular? É bastante simples: utilizando isopor (poliestireno), cola, tesoura, cordões, botões, palitos e tintas de várias cores você pode fazer montagens incríveis. Use sua imaginação e surpreenda seus colegas!

Síntese do Capítulo



As células se reconhecem e se ligam através de moléculas transmembranares, presentes nas membranas plasmáticas das células, sendo denominadas “moléculas de adesão celular” (CAM). Algumas dessas proteínas necessitam do Ca^{2+} para interagirem e são denominadas de caderinas. Essas proteínas formam estruturas que conectam firmemente uma célula na outra, chamadas de estruturas de adesão celular.

As estruturas de adesão celular, por sua vez, são classificadas em junções de vedação, junções de ancoramento e junções comunicantes.

As junções de vedação, ou junções oclusivas, se situam na parte apical das células e são formadas pelas proteínas claudina e ocludina. Essas proteínas se ligam de tal forma que impedem a passagem de íons entre essas células.

As junções de ancoramento consistem nas junções de adesão e nos desmossomos. A junção adesiva é formada por caderinas que se ligam, do lado externo, à membrana da célula vizinha e, do lado interno, aos microfilamentos de actina. Esses filamentos formam um cinto rodeando toda a parte interna da célula, formando o cinturão adesivo.

Os desmossomos são as estruturas mais densas, sendo formadas também por caderinas que se ligam aos filamentos intermediários através das proteínas de ancoramento. Essas proteínas formam a placa discoidal. Alguns desmossomos se ligam à matriz extracelular em vez de se ligarem a outras células e são chamados de hemidesmossomos.

As junções comunicantes ou junções em fenda são canais formados pelos conexons que permitem a passagem de pequenas moléculas de uma célula para a outra.

Atividades de avaliação



1. As proteínas CAM são responsáveis pela ligação entre as células. Cite alguns exemplos da importância dessas ligações.
2. Por que algumas CAM são denominadas de caderinas?
3. Descreva a estrutura da zona de oclusão e discuta a importância de sua existência para as trocas de nutrientes entre as células e o meio ambiente.
4. Por que a junção adesiva é classificada como uma junção de ancoramento?

5. Qual é a importância da comunicação celular através das junções em fenda?
6. Uma doença autoimune consiste na formação de anticorpos antidesmogleína, que é uma caderina formadora dos desmossomos. O que você espera acontecer ao portador dessa doença?
7. As células transformadas (cancerígenas) facilmente se soltam das outras células, podendo cair na circulação formando novos tumores em um tecido distante do tumor original (metástases). Por que isso acontece?

Referências



- ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora Art Med. 2004.
- DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**. 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.
- LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.

Capítulo

7

Sistema de endomembranas

Objetivos

- Caracterizar os diferentes componentes do sistema de endomembranas.
- Identificar as funções de cada componente e as relações estabelecidas entre eles para o exercício destas funções.

Introdução

O aparecimento do sistema de endomembranas representou um marco na evolução celular, pois o surgimento desse sistema originou as células eucarióticas.

A partir de processos de invaginação da membrana plasmática, a célula começou a ser compartimentalizada, o que levou a uma distribuição efetiva das funções celulares. Essas membranas, à medida que ocupavam o citosol, iam diferenciando-se e especializando-se, desenvolvendo nas células funções que atualmente são indispensáveis à sobrevivência e à proliferação celular.

1. Componentes do sistema de endomembranas

O sistema de endomembranas é constituído pelos retículos endoplasmáticos granuloso e não granuloso, pelos sáculos lameliformes, que juntos formam o complexo golgiense e as vesículas associadas, sendo que, dentre essas vesículas, destacam-se os lisossomos (Figura 40).

Uma importante estrutura que faz parte do sistema de endomembranas é o envelope nuclear ou carioteca. Esse sistema de dupla membrana que envolve o material genético é quem realmente determina uma célula eucariótica (*eu* = verdadeiro; *caryon* = núcleo). Portanto, podemos ter células que sejam pobres em organelas, como os protozoários do gênero *Trychomonas* e *Giardia*, que não possuem mitocôndrias, mas todos eles são dotados de um envelope nuclear. Devido à grande importância dessa estrutura, ela será abordada em detalhes no capítulo 10.

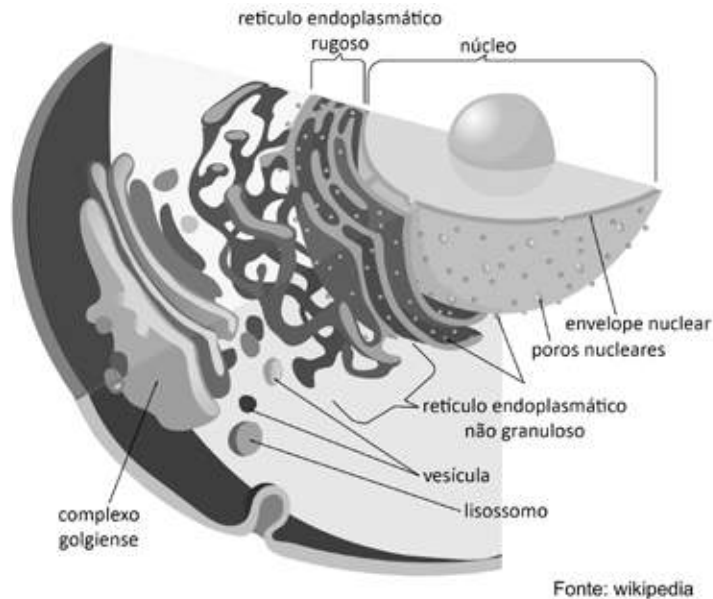


Figura 40 – Componentes do sistema de endomembranas.

2. Retículo endoplasmático granuloso

O retículo endoplasmático granuloso (REG), anteriormente denominado de retículo endoplasmático rugoso, tem essa denominação devido à presença de vários ribossomos aderidos à sua parte externa.

O REG é formado por um sistema contínuo de membranas com a membrana externa do envelope nuclear. A visualização do REG lembra vários sáculos achatados e empilhados, mas na realidade essa morfologia é o resultado das várias invaginações e evaginações que esse sistema de membrana sofre em toda sua extensão. A luz ou lúmen do REG é contínuo com o espaço intermembranoso do envelope nuclear, cuja denominação é espaço perinuclear.

A principal função do REG é a síntese e transporte de proteínas que vão ser exportadas, ou seja, exocitadas pela célula. Mas, além dessas proteínas, são aí sintetizadas as proteínas do próprio sistema de endomembranas e as proteínas que vão constituir a membrana plasmática. Baseado nessa função, a extensão do REG depende do tipo de célula. Portanto, aquelas células que produzem e secretam substâncias, como os plasmócitos (linfócitos B diferenciados que produzem e secretam anticorpos), possuem um sistema de endomembranas bastante desenvolvido, tanto no que diz respeito ao REG como aos sáculos lameliformes. No entanto, naquelas células que não secretam nenhum tipo de proteína, o REG é pouco extenso atendendo apenas às necessidades da própria célula.

3. Síntese de proteínas no retículo endoplasmático granuloso

Todas as proteínas são sintetizadas segundo os mesmos princípios metodológicos, não importando o destino posterior dessa proteína. Então, faremos um breve resumo da síntese das proteínas.

As proteínas são codificadas por genes, que são sequências específicas de DNA. Nos eucariotas, esses genes possuem uma porção regulatória, chamada de promotor. Nessa região, além de se ligarem os fatores de transcrição (proteínas que ativam ou inibem a expressão do gene), também se ligarão as RNA polimerases, enzimas responsáveis pela transcrição do DNA (gene). A transcrição do DNA corresponde à síntese dos diferentes RNA. O RNA mensageiro é aquele que codifica para as proteínas.

De acordo com o código genético, o aminoácido é codificado por uma trinca de nucleotídeos chamada códon. Cada códon representa um aminoácido diferente, embora um mesmo aminoácido possa ser codificado por mais de um códon. Isso levou a considerar que o código genético é degenerado, mas não é ambíguo, ou seja, para cada códon, existe apenas um aminoácido.

Os genes eucariotas são caracterizados pela presença dentre as regiões codificadoras, de sequência de nucleotídeos que não vão ser traduzidos na forma de polipeptídeos. Essas regiões foram denominadas de íntrons, enquanto as regiões codificadoras foram denominadas de éxons. Portanto, após a transcrição do mRNA é necessária a retirada dos íntrons em um processo denominado de *splicing* do RNA. Outras modificações, como a introdução de uma estrutura denominada cap na região 5' e de uma cauda poliA na região 3' são necessárias antes que o mRNA seja transportado para o citoplasma através de poros existentes na membrana nuclear.

Uma vez no citoplasma, esse mRNA vai ser traduzido pelos ribossomos, que são as estruturas responsáveis pela síntese da proteína (Figura 41).

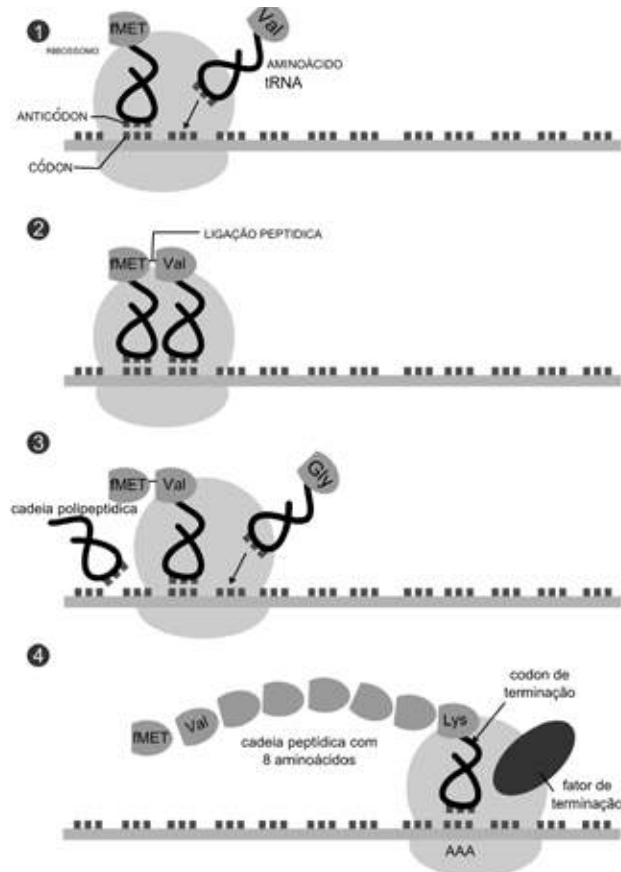


Figura 41 – Resumo da síntese de uma proteína, começando pela incorporação do met-tRNA (1) seguido pelo segundo aminoacil-tRNA (2). A enzima peptidil transferase cataliza a ligação peptídica liberando o primeiro tRNA. O alongamento da proteína prossegue (3) até a chegada do códon de terminação, onde o fator de liberação ocupa o sítio P e o polipeptídeo é liberado (4).

Podemos resumir a síntese protéica nas etapas seguintes.

1. Ativação: essa etapa corresponde à formação dos aminoacil-tRNA. O RNA transportador funciona como um intermediador entre a linguagem do DNA, que é aquela dos nucleotídeos e a linguagem das proteínas, que é a dos aminoácidos. Esses RNAs se ligam covalentemente de forma específica a um aminoácido através da ação de uma enzima chamada aminoacil-tRNA sintetase. O RNA transportador possui a forma de um trevo e, em um dos braços formados, eles apresentam uma trinca de nucleotídeos que forma pareamento de bases com o códon do aminoácido para o qual ele é específico. Essa trinca é denominada de anticódon e vai ligar-se ao códon do mRNA no ribossomo. Em suma, o processo de ativação consiste em ligar o aminoácido ao seu RNA transportador específico.

2. Iniciação: para todas as proteínas o primeiro aminoácido a ser adicionado é metionina, cujo códon é AUG, que recebeu a denominação de “códon de iniciação”. Um RNA transportador, carregando a metionina, se liga à subunidade menor do ribossomo, formando um complexo. Esse complexo reconhece o mRNA pela extremidade 5' devido ao “cap” e uma sequência líder. Uma vez ligado ao mRNA, esse complexo faz uma varredura até encontrar o códon de iniciação. Nesse momento, o complexo para, e a subunidade grande se acopla de tal forma ao conjunto que o metionil-tRNA fica situado no sítio P e o sítio A, contendo o próximo códon, fica vazio.

3. Alongamento: um tRNA transportando o aminoácido cujo códon é aquele presente no sítio A se acopla a esse sítio auxiliado pelos fatores de alongamento. Na subunidade grande, encontra-se a enzima responsável pela ligação peptídica. Trata-se de uma ribozima cujo nome é peptidil transferase. Através de uma competição nucleofílica entre o grupamento amino livre do aminoácido no sítio A e a hidroxila da ribose, que está ligada ao grupamento carboxila do aminoácido do sítio P, o grupamento amino desloca o tRNA e se liga à carboxila, formando a ligação peptídica.

Portanto, teremos agora um tRNA livre no sítio P e um tRNA carregando um dipeptídeo no sítio A. Em seguida, todo o ribossomo se deslocará sobre o mRNA a uma distância correspondente a três nucleotídeos (um códon) com o auxílio de uma translocase que utiliza a energia do GTP para fazer essa translocação. Dessa forma o tRNA ligado ao dipeptídeo passa a ocupar o sítio P ficando o sítio A vazio esperando o próximo aminoacil-tRNA.

Esse processo se repete até o momento em que o sítio A é ocupado por um códon de terminação, ou seja, uma trinca que não codifica para nenhum aminoácido. Nesse caso, o sítio A é ocupado por um fator de liberação e então a enzima peptidil transferase adiciona uma molécula de água à ligação entre o polipeptídeo recém-formado e o tRNA que é então liberado.

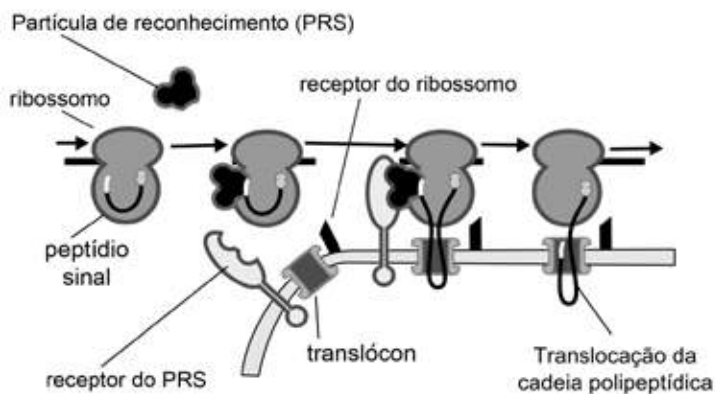


Figura 42 – A partícula reconhecedora do sinal se liga ao peptídeo-sinal e proporciona o acoplamento do ribossomo ao complexo de receptores na membrana do retículo.

Para as proteínas que vão ser transportadas através do REG, o processo biossintético é igual. Mas o que leva algumas proteínas a serem sintetizadas pelos ribossomos livres no citosol e outras nos ribossomos aderidos ao REG?

Na realidade, todas as proteínas inclusive as do REG começam sua síntese no citosol. As proteínas que vão ser endereçadas às organelas possuem, na sua região aminoterminal, uma sequência de aminoácidos chamada de peptídeo sinal. Essa sequência é reconhecida por um receptor situado na membrana da organela alvo, que vai favorecer a incorporação dessa proteína dentro da organela ou na sua membrana.

Para as proteínas endereçadas ao REG, logo após o aparecimento do peptídeo sinal, entra em cena um novo personagem: a partícula reconhecedora do sinal (PRS). O PRS é formado por seis proteínas e um pequeno RNA citossólico (scRNA) e reconhece o peptídeo sinal ligando-se a ele. Essa ligação impede o deslocamento do ribossomo ao longo do mRNA, interrompendo a síntese proteica.

Na membrana do retículo, encontramos um receptor para o PRS, que fica próximo a um receptor para a subunidade grande do ribossomo. Próximo a esses receptores, encontramos também um complexo proteico denominado translocon, nome para cujo a razão será relatada adiante. O receptor do PRS só reconhece essa partícula quando ela está ligada ao peptídeo sinal. A ligação do PRS ao seu receptor favorece a interação entre a subunidade ribossomal e o receptor na membrana do REG.

Ao ligar-se ao seu receptor, o PRS perde a sua afinidade pelo peptídeo sinal. Uma vez livre, o peptídeo sinal se liga ao complexo translocon e essa ligação faz com que esse complexo se transforme em um canal aberto. Com o deslocamento do PRS, o ribossomo recomeça a tradução do mRNA, sendo que a medida que o polipeptídeo vai sendo formado ele vai se incorporando ao lúmen do REG através do translocon. Quando termina a síntese, o polipeptídeo fica dentro do REG, porém preso à membrana através do peptídeo sinal. Uma proteína periférica chamada peptidase do sinal cliva o peptídeo sinal liberando o polipeptídeo para dentro do lúmen do REG.

E as proteínas transmembranares, como elas são associadas às membranas? Dá para encarar esse desafio?

Para as proteínas que serão integradas às membranas, entra em cena um novo componente: a sequência de parada de transferência. Essa sequência se encontra em uma região mediana do polipeptídeo e é formada por aminoácidos bastante hidrofóbicos. Portanto, quando essa sequência atinge o translocon, as cadeias laterais dos aminoácidos interagem com a bicamada lipídica da membrana. Essa associação impede que a proteína continue sendo trans-

portada para dentro do lúmen do retículo. No final, teremos uma parte hidrofílica do polipeptídeo dentro do retículo, uma porção hidrofóbica fazendo agora parte da membrana e uma porção hidrofílica no lado externo do retículo (Figura 43).

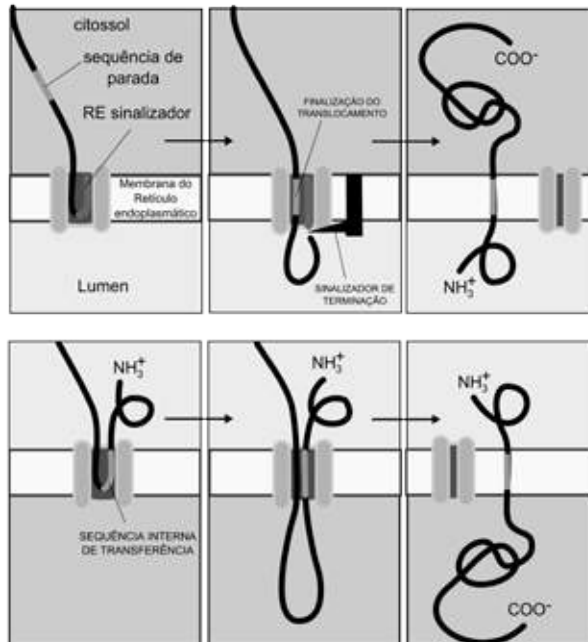


Figura 43 – Síntese de uma proteína integral de membrana no retículo endoplasmático granuloso.

4. Retículo endoplasmático não granuloso

Apesar de ser contínuo ao REG, o retículo endoplasmático não granuloso (RENG) apresenta morfologia e fisiologia bastante distintas do REG. O RENG tem formações tubulares que se bifurcam e se recombinaem em vários pontos de sua extensão. Várias de suas funções são exercidas pelas proteínas transmembranares que, em grande parte, são enzimas. Essas enzimas participam de vários processos celulares.

Dentre as funções do RENG, a mais importante é a síntese de lipídios de membrana, sendo o principal responsável pela formação das membranas de todas as organelas celulares. Entretanto, podemos relacionar outras funções essenciais para as células, tais como.

- glicogenólise;
- alongamento e dessaturação dos ácidos graxos (formação das duplas ligações entre os átomos de carbono);
- biossíntese de hormônios esteróis (estrógenos, cortisol, testosterona etc.);
- desintoxicação.

Outra importante função do RENG é como depósito de Ca^{2+} , principalmente nas células musculares, onde esse cátion é essencial no processo de contração muscular.

O RENG apresenta também uma função essencial no processo de autofagia. Dessa forma, quando uma organela, por exemplo, uma mitocôndria precisa ser eliminada, forma-se um fagossomo, que se fundirá com um lisossomo primário que destruirá essa organela. A membrana do fagossomo é formada a partir da membrana do RENG que engloba a organela de forma semelhante à membrana plasmática no processo de fagocitose.

5. Complexo golgiense

O complexo golgiense consiste no conjunto de sáculos lameliformes (dictiossomos) presentes na célula (Figura 44). Cada sáculo é formado por várias cisternas que se sobrepõem e várias vesículas que brotam dessas cisternas para se fundirem com outras cisternas ou com a membrana plasmática.

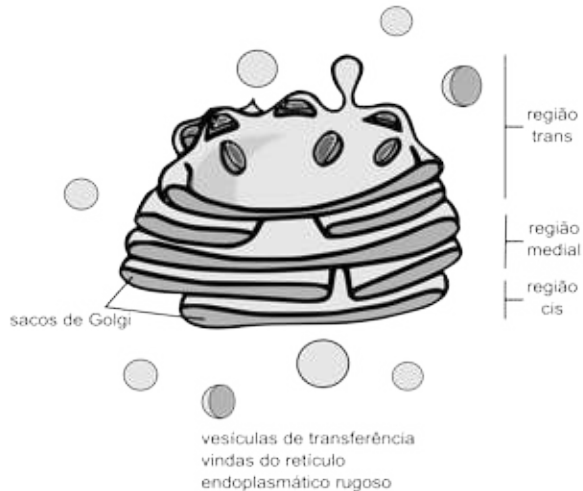


Figura 44 – Morfologia dos sáculos lameliformes que compõem o complexo golgiense.

Os sáculos lameliformes possuem uma estrutura polar, sendo que o lado que fica voltado para o núcleo apresenta uma forma convexa, enquanto a parte voltada para a membrana plasmática possui uma forma côncava. A parte do lado nuclear é denominada de lado cis, ou de formação, uma vez que as vesículas vindas dos retículos transportam proteínas ou lipídios que necessitarão de processamentos adicionais para adquirirem suas formas biologicamente ativas. A face voltada para a membrana plasmática é denominada trans, ou de maturação, uma vez que as vesículas liberadas possuem proteínas e lipídios prontos para exercerem as suas funções biológicas.

A integração do complexo golgiense com os retículos pode ser exemplificada através das formações das glicoproteínas pelo REG e os glicolipídios pelo RENG. As glicoproteínas são primeiramente glicosiladas no REG, recebendo todas o mesmo oligossacarídeo. Uma vez chegando ao complexo golgiense, esses oligossacarídeos serão modificados dando a cada proteína uma identidade glicosídica funcional específica.

No caso dos lipídios, eles são sintetizados no RENG e glicosilados pelas glicosil-transferases existentes nos sáculos do complexo.

Para refletir

No Capítulo 2, nós vimos que os lisossomos e os peroxissomos são considerados microcorpos devido ao seu tamanho e por possuírem uma só membrana. Agora sabemos que os lisossomos são formados a partir de vesículas que brotam do complexo golgiense. Como você imagina que são formados os peroxissomos?

6. Lisossomos

Os lisossomos são formados no complexo golgiense. Essas pequenas organelas possuem várias hidrolases que são enzimas que quebram as macromoléculas pela adição de uma molécula de água nas ligações das unidades que as compõem.

As hidrolases são glicoproteínas formadas no REG e transportadas para o complexo golgiense. Uma vez dentro dos sáculos, essas hidrolases recebem um grupamento fosfato em um resíduo de manose da sua porção glicosídica. Essa manose fosforilada é fundamental para que essas hidrolases sejam reconhecidas pelos receptores presentes na membrana da região formadora de lisossomos situada na região trans.

A membrana do lisossomo é rica em carboidratos na sua porção interna, o que proporciona uma proteção contra o ataque das hidrolases. Ela possui também várias bombas de prótons. Uma vez que os lisossomos são liberados, eles ativarão as bombas de prótons presentes em suas membranas acidificando o seu interior. O abaixamento do pH interno faz com as hidrolases percam a afinidade pelos seus receptores tornando-se dessa forma funcionais.

A principal função dos lisossomos é a digestão celular. Dessa maneira, as substâncias que entram na célula através de pinocitose ou fagocitose vão ser destruídas pelas hidrolases lisossomais. As membranas dos fagossomos que são formadas a partir da membrana plasmática se fundem com as membranas dos lisossomos (Figura 45).

A autofagia (*auto* = por si, *fagia* = comer) é um processo pelo qual a célula elimina aquelas organelas que não são mais funcionais. Ela é realizada

pelos lisossomos em conjunto com o RENG. Dessa forma, quando uma organela se encontra deteriorada, esta será envolvida pela membrana do RENG, formando assim o fagossomo que se fundirá com o lisossomo sendo totalmente digerida no interior deste.

Em algumas células, como os neurônios, os hepatócitos e as células musculares cardíacas, os fagolisossomos não completam a digestão total da organela, sendo, então, convertidos em corpos residuais. Com o avanço da idade, esses corpos formam pigmentos de inclusão que são acumulados no citosol.

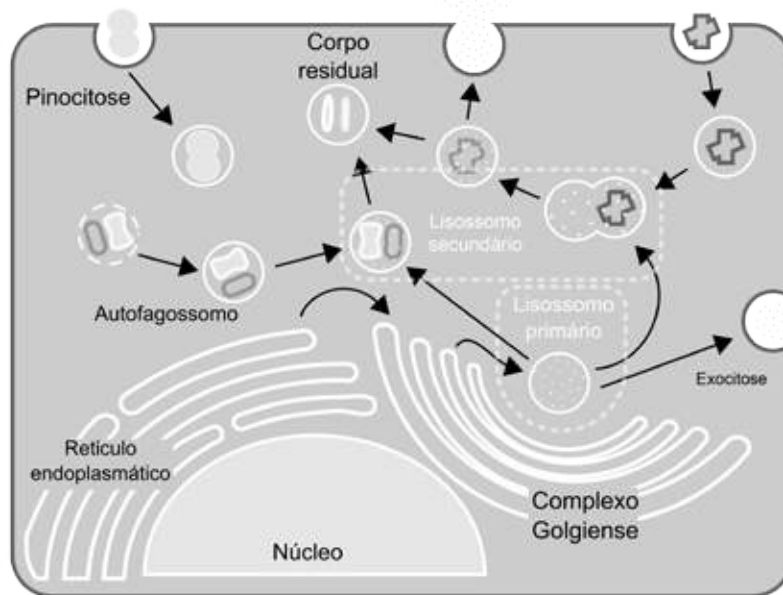


Figura 45 – Digestão de fagossomos pelos lisossomos e autofagia de uma mitocôndria.

Síntese do Capítulo



O sistema de endomembranas compreende o envelope nuclear, os retículos endoplasmáticos granuloso e não granuloso e o complexo golgiense. Também faz parte do sistema uma imensa quantidade de vesículas que trafegam entre as membranas do sistema e a membrana plasmática.

O sistema de endomembranas foi originalmente formado pelas invaginações da membrana plasmática, o que resultou no aparecimento das células eucarióticas.

O retículo endoplasmático granuloso apresenta, na parte externa, ribossomos responsáveis pela síntese de proteínas que vão ser translocados para dentro do lúmen ou serão incorporadas na membrana do retículo.

O retículo endoplasmático não granuloso tem uma estrutura tubular e é responsável por vários processos celulares, como síntese de lipídios de membrana, síntese de hormônios esteróis, depósito de Ca^{2+} , desintoxicação e glicogenólise.

O complexo golgiense é composto por várias cisternas e vesículas que juntas formam os sáculos lameliformes. Ele é responsável pelo processamento de proteínas e lipídios oriundos dos retículos. O complexo golgiense também é responsável pela formação dos lisossomos.

Os lisossomos possuem enzimas hidrolíticas (as hidrolases) responsáveis pela quebra de macromoléculas. Eles estão envolvidos no processo de digestão celular e de autofagia.

Atividades de avaliação



1. Como surgiu o sistema de endomembranas?
2. Quais são as características que distinguem o retículo endoplasmático granuloso do não granuloso?
3. Você pode perceber que a membrana externa do envelope nuclear possui ribossomos. Isso significa que nessa membrana também ocorre síntese de proteína?
4. Por que as hidrolases dos lisossomos não destroem as suas membranas?
5. Por que a formação do sistema de endomembranas marcou a separação entre as células eucarióticas e procarióticas.
6. Existe uma corrente de cientistas que acredita que a membrana plasmática teria sofrido um processo de evaginação para a formação das endomembranas. Isso explicaria porque as células eucarióticas são maiores que as procarióticas. O que você pensa a respeito disso?

Referências



ALBERTS, B. et al., **Biologia Molecular da Célula**. 4ª edição, Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª edição Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.

LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.

Capítulo

8

Mitocôndrias

Objetivos

- Distinguir as estruturas que compõem as mitocôndrias e conhecer as suas funções.
- Obter noções básicas da **respiração aeróbia**⁹, com ênfase no transporte de elétrons e a síntese de ATP.

Introdução

As mitocôndrias são consideradas as casas de força das células, ou seja, são as organelas responsáveis pela produção da energia fornecida para o trabalho celular. Mesmo as células fotossintéticas que produzem ATP através dos seus cloroplastos utilizam as mitocôndrias como maiores produtoras de energia. Nesse capítulo serão estudados os aspectos morfológicos e fisiológicos das mitocôndrias dando ênfase principalmente ao seu papel na respiração aeróbia.

1. Características gerais das mitocôndrias

A quantidade de mitocôndrias existente nas células depende diretamente de seus metabolismos. Aquelas células cujas funções majoritárias necessitam de uma grande quantidade de ATP, como as células musculares esqueléticas, possuem um número de mitocôndrias bastante superior às células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos, cujo metabolismo fundamental é baixo. Um ovócito de mamífero possui em torno de 100.000 mitocôndrias, enquanto que o espermatozoide da mesma espécie possui apenas 100 mitocôndrias.

Normalmente todas as células eucarióticas possuem mitocôndrias, mas existem algumas exceções para alguns protozoários. Nos mamíferos, as únicas células que não possuem mitocôndrias são as hemácias.

Durante o processo de **diferenciação**¹⁰, os eritroblastos vão perdendo algumas organelas, inclusive o núcleo, até chegar à formação da hemácia madura. Dessa forma, a hemácia apresenta um metabolismo **anaeróbio**¹¹, ou seja, fermentação láctica.

A localização das mitocôndrias também depende muito das funções celulares, concentrando-se em maior quantidade naquelas regiões que necessitam mais de energia. Nas células que apresentam cílios ou flagelos, as mitocôndrias se encontram preferencialmente próximo à base dessas estruturas e, no caso das células musculares, elas estão localizadas entre as miofibrilas.

⁹A respiração aeróbia é a principal forma de obtenção de energia dos organismos eucariotas, sendo também bastante presente nos procariotas. Ela se diferencia da respiração anaeróbia por oxidar completamente os compostos orgânicos em CO₂ e H₂O, usando, para tanto, o oxigênio molecular (O₂).

¹⁰Diferenciação é o processo pelo qual as células vivas se “especializam” para realizar determinada função. Os processos que levam à diferenciação serão analisados com detalhes no Capítulo 12. Eritroblastos são células-tronco precursoras das hemácias.

¹¹A respiração anaeróbia é também denominada de fermentação. Portanto, a fermentação láctica é um processo catabólico anaeróbio em que o piruvato resultante da glicólise é reduzido a ácido láctico. Esse processo é realizado pelas hemácias e nas células de músculos esqueléticos. Ele também é realizado por bactérias lácticas, sendo de grande importância para a indústria alimentícia na produção de iogurtes.

→ Se as células musculares possuem uma grande quantidade de mitocôndrias, por que você acha que elas precisam realizar fermentação láctica?

As mitocôndrias podem ter uma forma ligeiramente esférica, alongadas ou até mesmo bastante alongadas. O diâmetro pode variar de 0,1 a 0,5 μm e a extensão de 0,5 μm podendo chegar a 10 μm .

2. Morfologia

As mitocôndrias possuem um sistema de dupla membrana, a membrana externa e a membrana interna, separadas por um espaço denominado de intermembranoso. Essas membranas envolvem um ambiente aquoso responsável por várias funções importantes, a matriz mitocondrial (Figura 8.1).

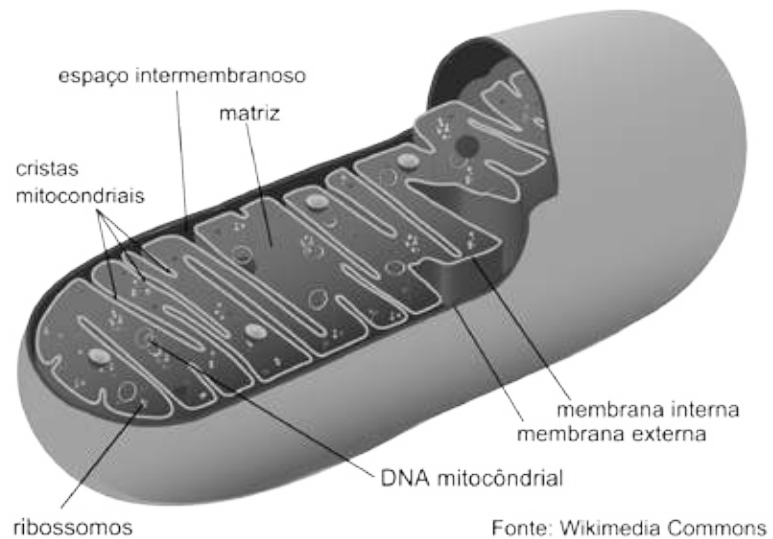


Figura 46 – Diferentes componentes que constituem a mitocôndria.

2.1. Membrana externa e espaço intermembranoso

A membrana externa é dita semipermeável por apresentar canais denominados porinas, cujo diâmetro permite a passagem de substâncias com massa molecular de até 5.000 daltons. Essa membrana possui em sua estrutura esteróis, que, no caso das mitocôndrias animais, trata-se do colesterol. A presença de porinas faz com que a constituição do espaço intermembranoso seja bastante similar ao citosol, porém mais ácido por razões que veremos posteriormente. O espaço intermembranoso é essencial no processo de síntese de ATP pelas mitocôndrias.

2.2. Membrana interna e as cristas mitocondriais

Contrariamente à membrana externa, a membrana interna se caracteriza pelo seu alto grau de impermeabilidade. Ela apresenta um lipídio denominado cardiolipina, que é altamente impermeável às substâncias polares. Até mesmo

íons pequenos como os prótons não conseguem ultrapassar a barreira hidrofóbica. Portanto, todas as moléculas polares, carregadas ou não, necessitam de uma proteína transportadora para chegar à matriz mitocondrial.

A membrana externa possui várias invaginações denominadas de cristas mitocondriais. Além da grande quantidade de proteínas transportadoras, são encontradas nessa membrana as proteínas que fazem parte da cadeia transportadora de elétrons e a enzima responsável pela síntese de ATP, a ATP-sintetase. Esses constituintes serão detalhados no tópico relacionado à síntese de ATP. Outra enzima importante encontrada nessa membrana trata-se da bomba de Ca^{2+} , uma vez que a mitocôndria também funciona como depósito de Ca^{2+} , embora seja numa proporção bem menor que o RENG.

2.3. Matriz mitocondrial

A matriz mitocondrial é um ambiente aquoso no qual ocorrem vias metabólicas importantes, como o ciclo de Krebs e a oxidação dos ácidos graxos¹² (α e β). Parte do ciclo da ureia também ocorre na matriz mitocondrial.

Na matriz mitocondrial, encontra-se também material genético, ou seja, a mitocôndria é portadora de um genoma e possui todas as ferramentas para replicar, transcrever e traduzir esse genoma.

O DNA mitocondrial (mt-DNA) possui dupla fita e é circular, como o DNA bacteriano. Ele está presente normalmente em mais de uma cópia e é ligeiramente condensando, lembrando o nucleóide das bactérias. Ainda de forma similar às bactérias, eles se encontram próximos à membrana mitocondrial interna.

Nos mamíferos, o genoma mitocondrial possui 16.569 bp, dentre os quais podemos identificar 37 genes, sendo 22 genes para os RNA transportadores (tRNA), 2 genes para RNA ribossômico (rRNA) e 13 genes para RNAm (Figura 47).

¹²A degradação das gorduras é realizada nas mitocôndrias por um processo denominado oxidação dos ácidos graxos e consiste em uma fonte importante de ATP para os animais.

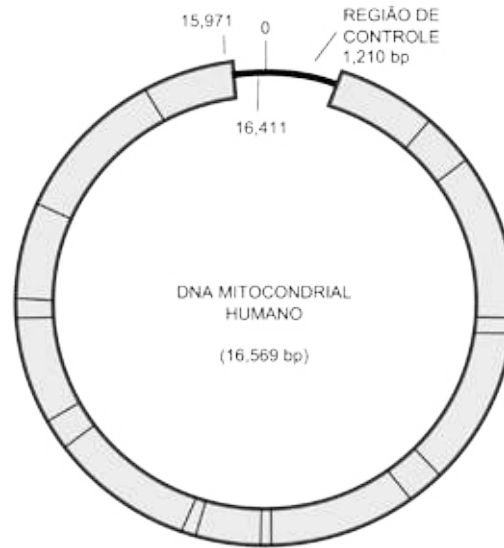


Figura 47 – O genoma de uma mitocôndria humana.

Como podemos observar pela quantidade de nucleotídeos do DNA mitocondrial, a quase totalidade das proteínas mitocondriais são codificadas pelo genoma nuclear e, portanto, sintetizadas pelos ribossomos presentes no citosol. No entanto, não podemos menosprezar a importância dos polipeptídeos codificados pelo genoma mitocondrial, pois eles compõem a cadeia transportadora de elétrons, assim como fazem parte da ATP-sintetase. Esses polipeptídeos já foram caracterizados e sabemos que constituem os seguintes elementos: as subunidades 1, 2, e 3 da enzima citocromo oxidase presente no complexo IV; as subunidades 6, 8 e 9 da parte Fo da ATP-sintetase; a subunidade b da enzima CoQH₂-Citocromo C redutase e ainda sete subunidades da NADH-CoQ redutase.

Mutações¹³ nesses genes podem causar doenças graves, tornando inviável o desenvolvimento do indivíduo. Essas doenças são denominadas de herança materna, uma vez que a grande maioria das nossas mitocôndrias pertence ao ovócito. Podemos citar como exemplo as seguintes doenças.

- **Neuropatia hereditária de Leber**, (degeneração do nervo ótico, acompanhada por um aumento progressivo de cegueira) causada devido a uma mutação no gene que codifica a subunidade 4 NADH-CoQ redutase;
- **Síndrome de Kearns-Sayre**, caracterizada por uma degeneração no sistema nervoso central, atingindo principalmente o coração e a visão; e várias outras como a síndrome de Barth, Doença de Leigh etc.

¹³Mutações gênicas são alterações na sequência do genoma, devido à substituição, deleção ou inserção de alguns nucleotídeos. Essas mutações podem ser provocadas por erros na replicação do DNA ou pela ação de agentes externos, como o raio ultravioleta.

3. Síntese das proteínas mitocondriais

Como foi dito anteriormente, as proteínas mitocondriais, em sua grande maioria, são sintetizadas no citosol. Elas são endereçadas às mitocôndrias através de um peptídeo sinal que possui um receptor na membrana externa da mitocôndria (Figura 48). Uma vez formado, o complexo peptídeo-receptor migra no plano da membrana até uma região em que se localiza o canal onde será feita a translocação do polipeptídeo. Esse canal se liga a outro canal similar presente na membrana mitocondrial interna e, assim, o peptídeo é introduzido dentro da matriz da mitocôndria.

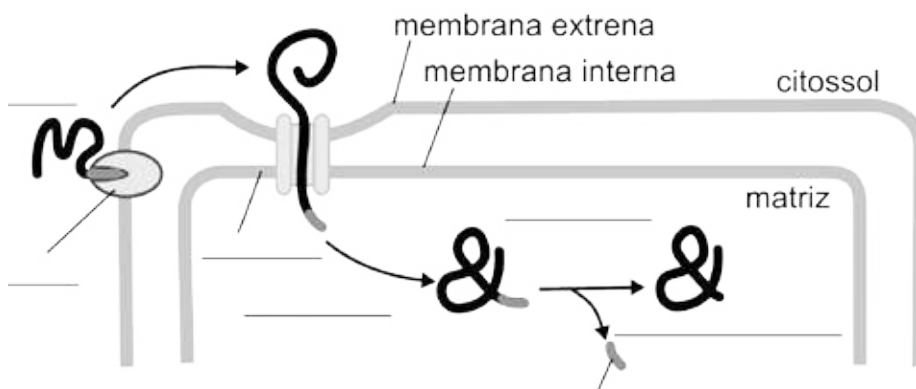


Figura 48 – Incorporação de uma proteína mitocondrial sintetizada pelos ribossomos citosólicos.

4. Divisão das mitocôndrias

As mitocôndrias se originam das mitocôndrias pré-existentes por fissão binária (Figura 49). Dessa forma, elas aumentam de tamanho, duplicam o seu DNA, e a membrana interna começa a se invaginar em um processo similar àquele das bactérias. Após a total separação da membrana interna, a membrana externa também começa um processo de invaginação até que as duas mitocôndrias-filhas são separadas.

A divisão das mitocôndrias pode ocorrer de forma independente da divisão celular. Portanto, uma célula que não esteja em divisão pode necessitar de novas mitocôndrias, seja pela necessidade de uma maior quantidade de energia, seja pela autofagia de mitocôndrias danificadas.

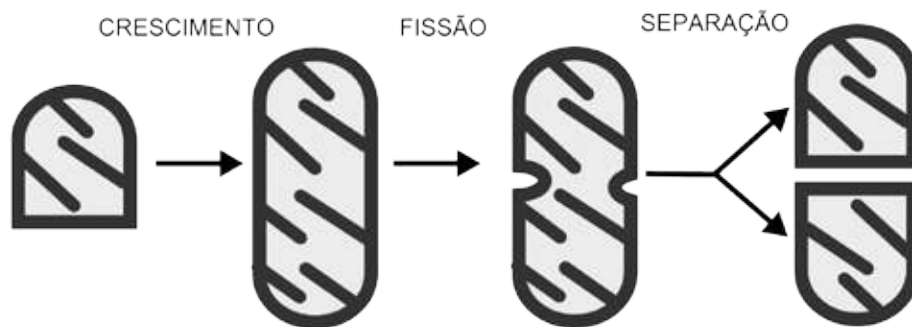


Figura 49 – Divisão de uma mitocôndria por fissão binária.

5. Autofagia das mitocôndrias

Quando estudamos o retículo endoplasmático não granuloso e os lisossomos, citamos o processo da autofagia. Quando uma mitocôndria sofre danos oxidativos em suas membranas ou outro tipo de alteração que comprometa suas funções essa mitocôndria vai ser digerida pela própria célula.

O fagossomo é formado a partir da membrana do RENG que envolve a organela, desprendendo uma vesícula contendo em seu interior, a mitocôndria. Esse fagossomo, por sua vez, se funde com os lisossomos primários, e a mitocôndria é totalmente degradada pelas hidrolases presentes no interior dessas organelas.

6. Respiração

A respiração aeróbia é o principal mecanismo de obtenção de ATP, principalmente pelos eucariotas pluricelulares. Durante o processo evolucionário, as células desenvolveram mecanismos para degradar macromoléculas, principalmente carboidratos, através de reações oxidativas liberando a energia armazenada nessas moléculas. Essa energia é temporariamente guardada na forma de ATP, que é então utilizado nos vários processos fisiológicos, como transporte de nutrientes, locomoção, contração, biossíntese de macromoléculas e divisão celular.

A respiração aeróbia pode ser dividida em quatro etapas principais: a via glicolítica ou glicólise; a descarboxilação oxidativa do piruvato; o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) e a fosforilação oxidativa. Desses quatro processos, apenas a via glicolítica não ocorre nas mitocôndrias, tendo lugar no citosol da célula eucariótica.

6.1. Glicólise

A via glicolítica, ou glicólise, é certamente um dos caminhos metabólicos mais antigos, considerando à grande homologia entre as enzimas dessa via nas células procarióticas e nas células eucarióticas.

A glicólise consiste de dez reações em cascata, nos quais o produto de uma enzima é o substrato da próxima enzima (Figura 50). Nessa via, uma molécula de glicose, um açúcar de seis carbonos (hexose), é quebrada para dar origem a duas moléculas de ácido pirúvico (ou piruvato), que contém três carbonos.

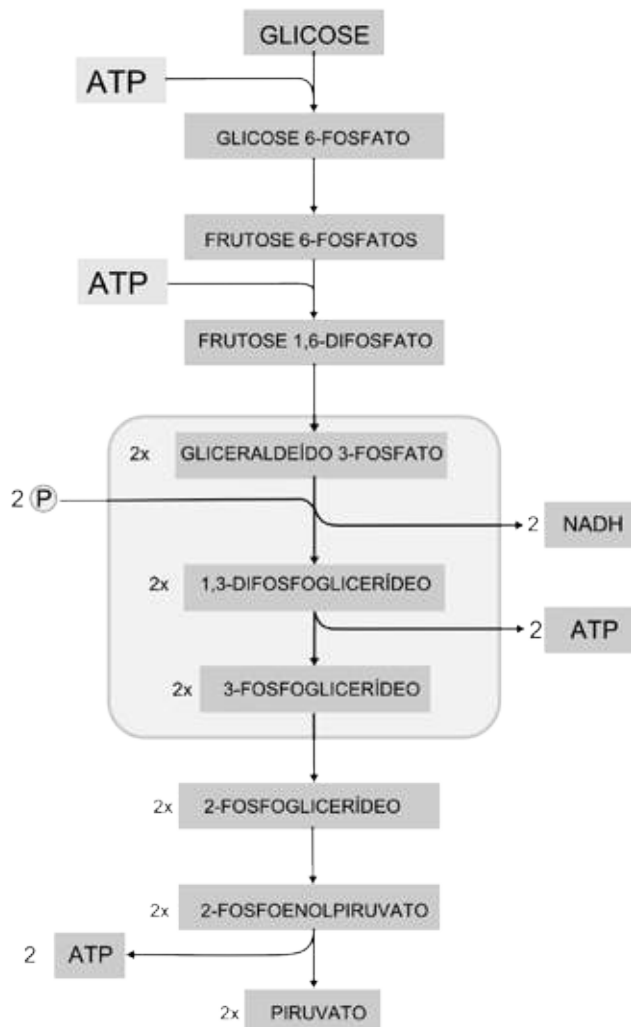


Figura 50 – Resumo da via glicolítica ou glicólise.

A quebra da glicose gera energia que é armazenada na formação de duas moléculas de ATP e trata-se de um processo oxidativo. O aceptor de elétrons dessa via é uma coenzima denominada nicotinamida-adenina dinucleo-

otídeo (NAD). Durante a glicólise, duas moléculas dessa coenzima são reduzidas, formando NADH. Portanto, podemos dizer que o saldo final da glicólise consiste em: 2 piruvatos + 2 ATP + 2 NADH.

6.2. Complexo piruvato-desidrogenase

O piruvato formado no citosol atravessa a membrana mitocondrial interna através de um transportador para que seja efetuada a próxima etapa da respiração, que consiste na descarboxilação oxidativa do piruvato (Figura 51).

Pela ação de um complexo enzimático presente na matriz mitocondrial, o complexo piruvato-desidrogenase, o piruvato perde sua carboxila, que é liberada na forma de CO_2 e o radical acetil resultante é ligado a coenzima A de acordo com a reação abaixo:

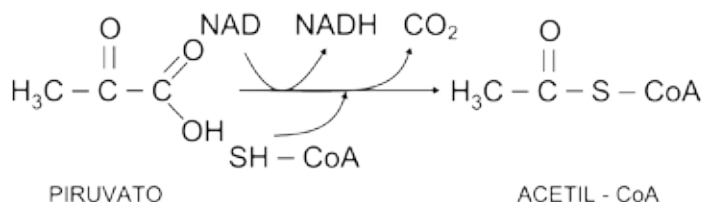


Figura 51 – Formação do acetil-CoA pela ação da enzima piruvato-desidrogenase.

6.3. Ciclo de Krebs

O acetil-CoA, formado a partir do piruvato, vai ingressar na próxima via metabólica, o ciclo do ácido cítrico, em que ele será totalmente oxidado a CO_2 e H_2O (figura 52). Esse ciclo começa com a condensação do grupamento acetil com o ácido oxaloacético, um ácido dicarboxílico de quatro carbonos presente na matriz mitocondrial.

Nessa reação a coenzima A é liberada e então é formado o ácido cítrico com seis carbonos e três carboxilas. O ácido cítrico sofre um rearranjo molecular e se transforma no seu isômero, o ácido isocítrico. O ácido isocítrico é submetido a uma descarboxilação oxidativa, liberando um CO_2 e formando o ácido α -cetoglutárico. Um NAD foi o receptor de elétrons reduzindo-se a NADH.

Em seguida, o ácido α -cetoglutárico sofre uma transformação similar àquela do piruvato, em que um CO_2 é liberado formando o radical do ácido succínico que se une a coenzima A, dando origem ao Succinil-CoA. Mais uma vez, o aceptor de elétrons foi o NAD que foi reduzido a NADH.

Nessa etapa do ciclo, podemos verificar que os dois carbonos oriundos do acetil-CoA foram eliminados, mas é necessária a continuação do ciclo para

que haja a recuperação do ácido oxaloacético que foi utilizado na primeira etapa do ciclo. Dessa forma, o Succinil-CoA libera a CoA e forma o ácido succínico. Nesta reação há uma grande liberação de energia, que é aproveitada por uma fosforilase matricial, para adicionar um radical fosfato ao GDP formando, assim, um GTP.

Normalmente, o GTP doa seu grupamento fosfato ao ADP, formando um ATP. O ácido succínico é em seguida oxidado pela succinato-desidrogenase, formando o ácido fumárico. Essa enzima apresenta duas particularidades: a primeira é que ela utiliza a flavina adenina dinucleotídeo (FAD) como aceptor de elétrons, e a segunda é que ela é uma proteína transmembranar, sendo que além de pertencer ao ciclo ela também integra a cadeia transportadora de elétrons, que veremos adiante.

Continuando o ciclo, o ácido fumárico sofre uma hidratação, formando o ácido málico. Por fim, o ácido málico é oxidado pela enzima malato-desidrogenase, recuperando assim o ácido oxaloacético. Nessa reação, mais um NAD é reduzido, formando NADH.

Lembre-se de que cada molécula de glicose forma dois ácidos pirúvicos, o que equivale a dizer que, para cada glicose, são necessárias duas voltas no ciclo de Krebs.

Fazendo um balanço final da oxidação da glicose, podemos verificar que foram formados 4 ATP, 10 NADH e 2 FADH₂. Considerando que a energia de hidrólise de um mol ATP equivale a 7,4 Kcal; portanto, a respiração teria acumulado apenas 29,6 Kcal, o que equivale a aproximadamente 2% da energia contida na glicose. Então, para onde foi a energia restante? Podemos dizer que uma fração foi dissipada na forma de calor, mas a grande maioria está armazenada nos elétrons captados pelos aceptores NAD e FAD. Mas como essa energia será transformada em ATP? Para compreendermos essa transferência de energia, será necessário fazermos uma abordagem do funcionamento da cadeia transportadora de elétrons presente nas cristas mitocondriais.

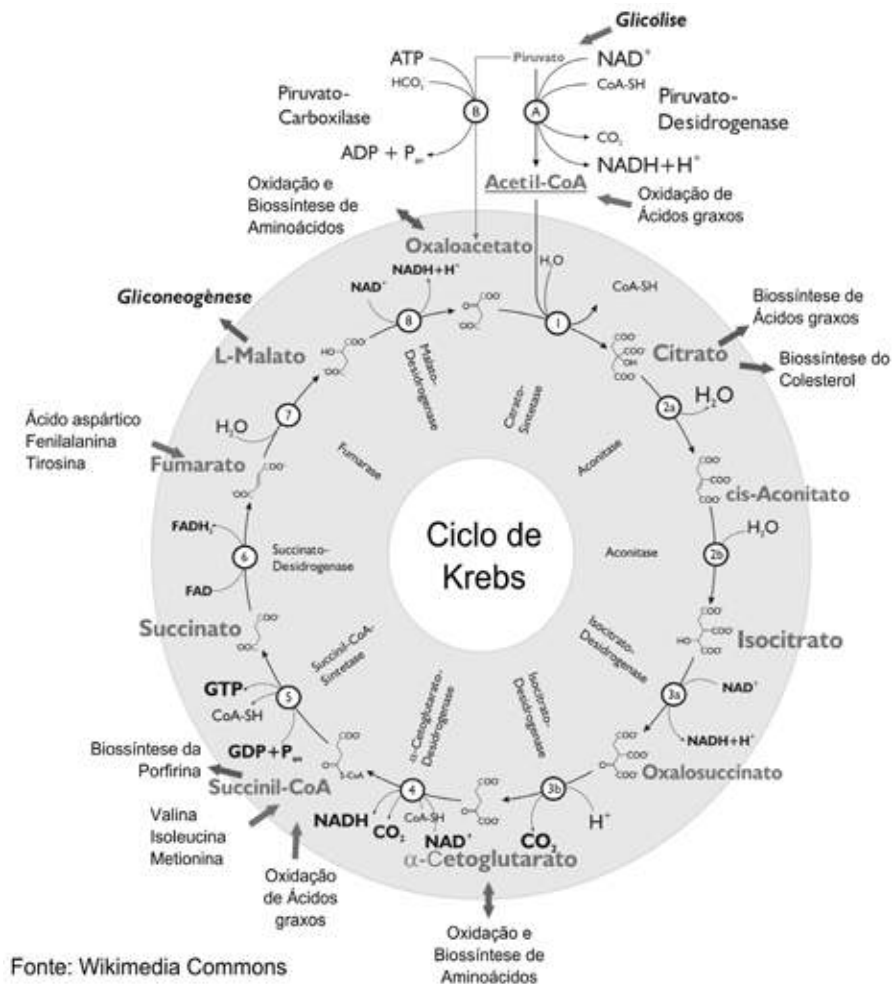


Figura 52 – Ciclo do ácido cítrico ou ciclo de Krebs.

6.4. Cadeia transportadora de elétrons

Uma cadeia transportadora de elétrons pode ser simplificada como um conjunto de reações de óxidorredução, ou seja, uma substância A pode oxidar-se doando seu elétron a uma substância B, que será então reduzida. Essa substância B pode doar esse elétron a uma substância C, voltando para a sua forma oxidada e reduzindo, por sua vez, a substância C. Mas o que indica que o elétron vai ser doado para a substância B e não o contrário? Quais são as forças que dirigem os elétrons em uma determinada direção?

Duas propriedades inerentes a essas substâncias vão predizer a direção do fluxo de elétrons. A primeira é a energia livre G dos transportadores, ou seja, os elétrons fluem das substâncias com energia livre maior para aquelas com energia livre menor, o que torna a reação termodinamicamente favorável. Outra propriedade é o potencial de redução E ; quanto maior o potencial

de redução de uma substância, maior a sua afinidade por elétrons. Portanto, o elétron passa de um composto que tenha um potencial de redução menor para aquele cujo potencial de redução é superior (Figura 53).

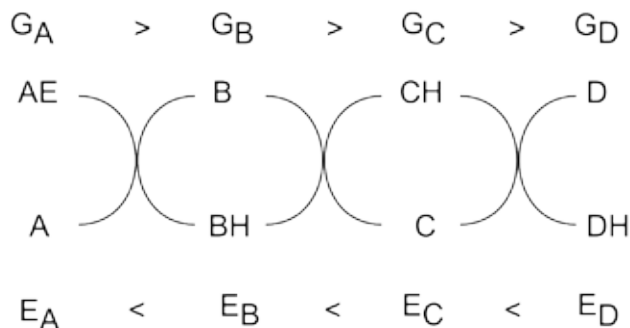


Figura 53 – Representação esquemática de reações de oxidorredução, nas quais o elétron transportado está sob a forma de um átomo de hidrogênio (H). O elétron é transportado do composto A ao composto D, regido pela diminuição da energia livre (G) e pelo aumento do potencial de redução (E).

Existe mais de uma forma de se oxidar ou se reduzir. Essa oxidação pode ser simplesmente pela perda de elétrons, mas pode ser também pela doação de um átomo de hidrogênio. Lembre-se de que um hidrogênio possui um elétron, portanto, ao doá-lo, a substância estará se oxidando. A substância pode oxidar-se também quando algum dos seus átomos, por exemplo, um carbono, se liga a um átomo de oxigênio, que, devido à alta eletronegatividade do seu núcleo, vai atrair para si o par de elétrons. O NAD se reduz através da ligação com um íon hidreto, ou seja, um hidrogênio com dois elétrons.

Vimos como ocorre o transporte de elétrons, mas sabemos que as cristas mitocondriais, como as outras membranas são formadas por lipídios e proteínas e qualquer oxidação nessas moléculas danificaria irreversivelmente essas membranas.

Na realidade, os transportadores de elétrons se encontram associados às proteínas da membrana, com exceção de um transportador, que tendo natureza lipídica, se encontra dentro da faixa hidrofóbica da membrana. Esse transportador é uma quinona chamada de Ubiquinona ou Coenzima-Q. Portanto, existem transportadores que são coenzimas, como a flavina mononucleotídeo (FMN), que está associada à enzima NADH-desidrogenase, as proteínas ferro-enzofre e os citocromos.

As proteínas ferro-enzofre são proteínas que possuem átomos de ferro complexados aos grupamentos sulfidríla dos resíduos de cisteína desses polipeptídeos.

Os citocromos são moléculas que possuem um grupamento heme (anel porfirínico) similar aquele encontrado na hemoglobina. Existem vários tipos de

citocromos. Nas mitocôndrias, os citocromos do tipo b e do tipo c possuem um átomo de ferro associado ao grupo heme, e os citocromos do tipo A possuem um átomo de cobre em vez do ferro.

Os transportadores de elétrons encontram-se na membrana de maneira agrupada formando quatro complexos (Figura 54):

- **Complexo I:** complexo da NADH-desidrogenase, recebe os elétrons que vêm do NADH. Possui várias proteínas ferro-enxofre.
- **Complexo II:** complexo da succinato-desidrogenase que têm o FAD como cofator.
- **Complexo III:** denominado de complexo c-b1 ou citocromo c redutase, pois vai doar seus elétrons para o citocromo c.
- **Complexo IV:** recebe o nome citocromo oxidase, pois vai oxidar o citocromo c e vai doar os elétrons para o último receptor da cadeia, o oxigênio molecular que irá se reduzir formando água.

Os elétrons que passam pelos complexos I e II são doados diretamente para a coenzima-Q e a partir de então, eles seguem a mesma rota.

O citocromo c não pertence a nenhum complexo e está associado a uma proteína periférica situada na parte externa da membrana interna. No Capítulo 12 estudaremos a importância desta substância na apoptose.

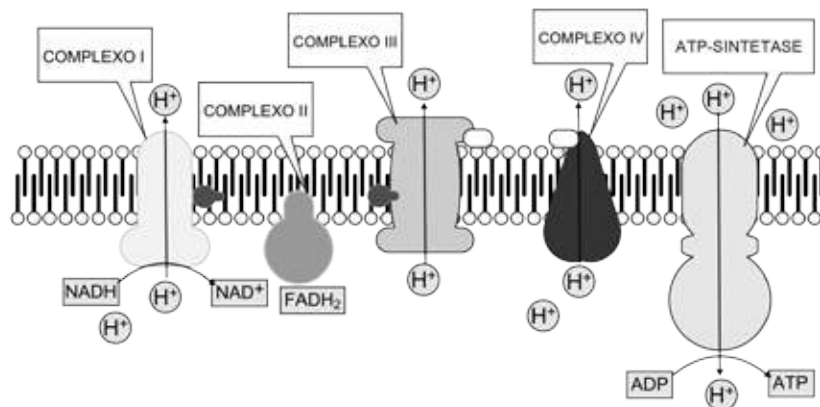


Figura 54 – Cadeia transportadora de elétrons apresentando os complexos I, III e IV.

6.5. Síntese de ATP

Como já foi dito anteriormente, à medida que os elétrons são transportados eles vão perdendo energia livre. No caso da cadeia transportadora da crista mitocondrial, os elétrons partem do NADH, que têm uma energia livre de 50 Kcal, para o oxigênio, que, devido à sua alta estabilidade, possui uma energia livre praticamente nula. O que ocorre com essa energia liberada pelos elétrons? Como essa energia está acoplada à formação de ATP?

O grande bioquímico Mitchel propôs um mecanismo de síntese de ATP nas mitocôndrias, que ficou conhecido como a hipótese quimiosmótica de Mitchel. De acordo com essa hipótese, a energia liberada pelos elétrons ao longo da cadeia transportadora é utilizada para bombear prótons da matriz para o espaço intermembranoso, formando-se um gradiente de prótons que detém a força motora (protoncomotora) que dirigirá a síntese de ATP. Essa hipótese propõe que os próprios complexos podem funcionar como bombas de prótons.

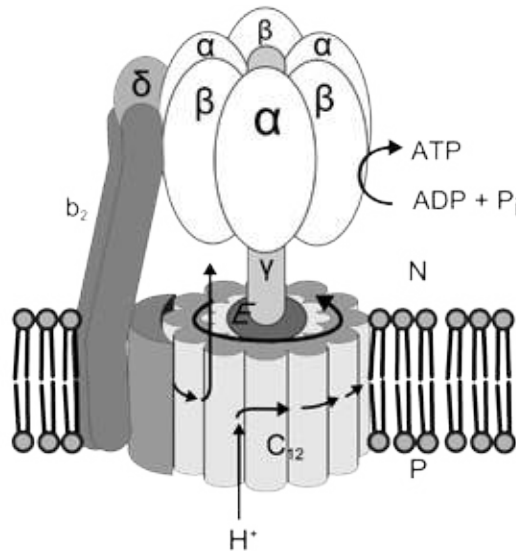


Figura 55 – Estrutura da ATP-sintetase presente nas cristas mitocondriais demonstrando o acoplamento entre o transporte de prótons e a síntese de ATP.

Nas cristas mitocondriais, estão presentes complexos enzimáticos responsáveis pela fosforilação do ADP formando ATP e, por essa razão, foram denominados de ATP-sintetase (Figura 55). A ATP-sintetase possui em seu interior um canal que permite a passagem dos íons H^+ em direção à matriz mitocondrial a favor do seu gradiente eletroquímico.

Dessa forma, a energia potencial armazenada no gradiente de prótons será utilizada para a formação do ATP a partir da fosforilação do ADP pelo fosfato inorgânico. Esse processo de síntese de ATP é denominado de fosforilação oxidativa, uma vez que a energia inicial para a formação do ATP advém da oxidação de moléculas orgânicas complexas. O mecanismo da síntese de ATP já está bastante detalhado através de vários trabalhos experimentais.

A quantidade de ATP formado a partir de cada par de elétrons que entra na CTE difere de acordo com a origem. Como o $FADH_2$ possui uma energia livre ligeiramente inferior ao $NADH$, a quantidade de ATP formada é menor. Portanto, para cada par de elétrons do $NADH$ que passa através da cadeia transportadora, são formados em torno de 2,7 ATP, enquanto que, para cada par de elétrons do $FADH_2$, são formados 1,7 ATP.

Síntese do Capítulo



As mitocôndrias são consideradas a casa de força das células, uma vez que essa organela é a principal fonte de ATP celular. Elas possuem uma membrana externa altamente permeável, devido à presença de canais (porinas) que permitem a passagem de substâncias de até 5000 daltons e uma membrana interna bastante seletiva, devido principalmente à presença do lipídio cardiolipina. Entre essas duas membranas, existe o espaço intermembranoso. A membrana interna possui várias invaginações que formam as cristas mitocondriais. Nas cristas mitocondriais, se encontram a cadeia transportadora de elétrons e a ATP-sintetase.

As duas membranas circundam um espaço aquoso, a matriz mitocondrial. Nessa matriz ocorre o ciclo de Krebs no qual, a acetil-CoA, resultante do metabolismo dos carboidratos e dos ácidos graxos, é completamente oxidada a CO_2 e H_2O . Os elétrons são recolhidos pelas coenzimas NAD e FAD e são transferidos para a cadeia transportadora de elétrons. De acordo com a hipótese quimiosmótica, a energia liberada por esses elétrons é utilizada para impulsionar prótons da matriz para o espaço intermembranoso. A energia potencial desse gradiente é chamada de força protonicomotora e é a responsável pela síntese de ATP.

As mitocôndrias possuem um genoma formado por uma molécula de DNA circular e ribossomos que sintetizam as proteínas codificadas por esse genoma. As mitocôndrias se dividem por fissão binária de forma similar às bactérias e quando se tornam pouco funcionais são destruídas por autofagia.

Atividades de avaliação



1. Descreva as estruturas que compõem as mitocôndrias.
2. O que você entende sobre reações de óxidorredução?
3. Como a energia liberada pelo fluxo de elétrons na cadeia transportadora está associada à síntese de ATP?
4. Qual é a importância dessas organelas para os organismos eucariotas, uma vez que os procariontes aeróbicos não a possuem?

Referências



ALBERTS, B. et al., **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª edição, Porto Alegre: Editora Artmed. 2006.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**. 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.

LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.

Cell Biology Graduate Program. Texas University. Disponível em:
<http://cell.bio.utmb.edu/mitoch2.htm>. Acessado em 02/10/2008 às 14:00 h.

Capítulo

9

Cloroplastos

Objetivos

- Distinguir as diferentes estruturas que compõem o cloroplasto.
- Compreender o processo de absorção de luz pelos fotossistemas e a transdução da energia luminosa em energia química.
- Conhecer o mecanismo de fixação do CO₂ atmosférico.

Introdução

Como mencionado no Capítulo 1 sobre a origem e evolução celular, de acordo com a hipótese endossimbiótica, os cloroplastos e as mitocôndrias se originaram a partir de procariotas fotossintetizantes e células aeróbias, respectivamente, que foram fagocitadas por células eucarióticas.

Os cloroplastos, juntamente com as mitocôndrias, constituem as casas de força das células, ou seja, são as organelas que mais produzem energia. No entanto, estudando as mitocôndrias, aprendemos que a energia utilizada para geração de ATP era oriunda da oxidação de moléculas complexas e, portanto, o processo foi denominado de fosforilação oxidativa. Já os cloroplastos utilizam energia diretamente da luz solar, sendo, por isso, o processo denominado fotofosforilação.

1. Características gerais dos cloroplastos

Os cloroplastos podem ser encontrados em qualquer tecido verde da planta, como, por exemplo, no caule de plantas jovens. Entretanto, a principal localização dessas organelas é o tecido mesófilo de folhas, tanto no mesófilo esponjoso, como no mesófilo paliádico das plantas C₃ e nas células da bainha do feixe nas plantas do tipo C₄.

Nas células maduras, os cloroplastos podem dividir-se dando origem a dois cloroplastos iguais. No entanto, nas células jovens do embrião em desenvolvimento ou nas células meristemáticas, os cloroplastos se originam a partir dos pró-plastídios.

2. Morfologia

Os cloroplastos possuem um envelope formado por duas membranas, que envolvem um espaço aquoso, chamado de estroma. No estroma, iremos encontrar um terceiro tipo de endomembranas, os tilacoides. (Figura 56)

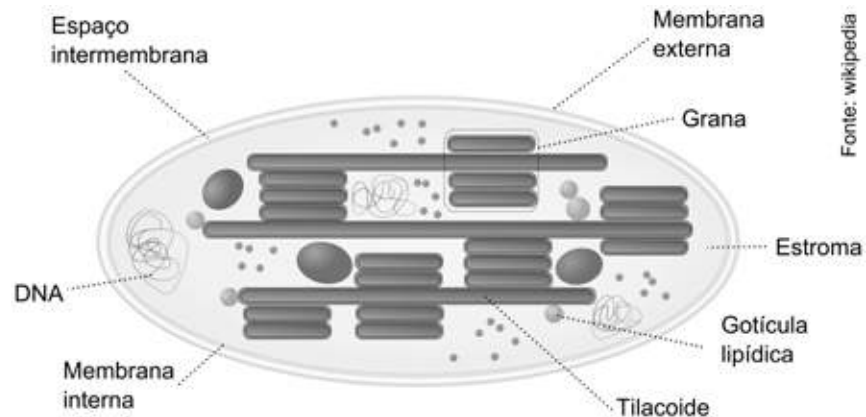


Figura 56 – Estruturas que compõem os cloroplastos.

2.1. Envelope do cloroplasto (membranas externa e interna)

A membrana externa dos cloroplastos de forma similar às mitocôndrias é semipermeável, devido à presença de porinas, sendo que a membrana interna é altamente seletiva à entrada e à saída de substâncias polares. Essas membranas não apresentam pigmentos, sendo a membrana externa transparente, e a membrana interna apresenta uma coloração levemente amarelada. Essas membranas são chamadas de “envoltório” do cloroplasto, pois envolvem um ambiente aquoso denominado de estroma.

Mergulhado no estroma, encontramos um rico sistema de membranas repleto de pigmentos, principalmente de clorofila que confere a essas membranas uma coloração verde. A esse sistema de membranas deu-se o nome de tilacoides.

2.2. Tilacoides

Os tilacoides se apresentam como vários sáculos empilhados, cuja denominação é *granum* (plural = grana). Os grana são interconectados por tilacoides denominados estromais ou intergranais. Na realidade, todos os tilacoides consistem numa única rede de membranas envolvendo um espaço contínuo denominado de espaço intratilacoidal. Os tilacoides são os responsáveis pelas reações do claro, ou seja, pela captação e a transdução da energia luminosa em energia química, como veremos mais adiante.

a) Os fotossistemas

As reações do claro são realizadas em unidades organizadas na forma de domínios membranares denominados de “fotossistemas”. Existem dois tipos de fotossistemas: o fotossistema I ou P700 e o fotossistema II ou P680. Cada fotossistema possui vários pigmentos além das clorofilas, denominados de pigmentos antena ou acessório, e um pigmento muito importante, uma clorofila A, chamada de centro de reação. Existe também para cada fotossistema uma cadeia transportadora de elétrons.

Nos vegetais superiores, encontramos dois tipos de clorofilas: a clorofila A e a clorofila B. As clorofilas possuem um grupo heme em que podemos encontrar um íon Mg^{2+} complexado ao anel porfirínico. Através desse anel, as clorofilas se ligam às proteínas das membranas tilacoidais. Mas as clorofilas possuem também uma grande cauda hidrofóbica que interage com os lipídios de membrana. A diferença entre as clorofilas do tipo A e do tipo B consistem apenas na substituição de um grupamento metil ($-CH_3$) da clorofila a por um radical formil ($-C=O$) na clorofila b (Figura 57).

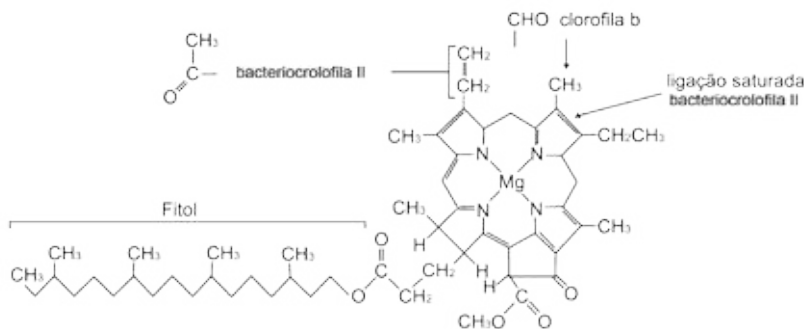


Figura 57 – Estrutura da molécula de clorofila.

3. Reações do claro

3.1. Aspectos gerais da luz visível

A luz tem natureza ondulatória, mas também pode ser quantificada como fótons de luz. O comprimento de onda da luz é inversamente proporcional à sua energia, ou seja, quanto maior o comprimento de onda menor a energia do fóton.

O espectro de luz absorvido pelos pigmentos corresponde à luz visível, ou seja, aquela luz que pode ser vista em forma de cor. Essa luz também chamada de luz clara ou branca está situada na faixa de comprimento de ondas que vai de 400 nm à 700 nm (Figura 58).

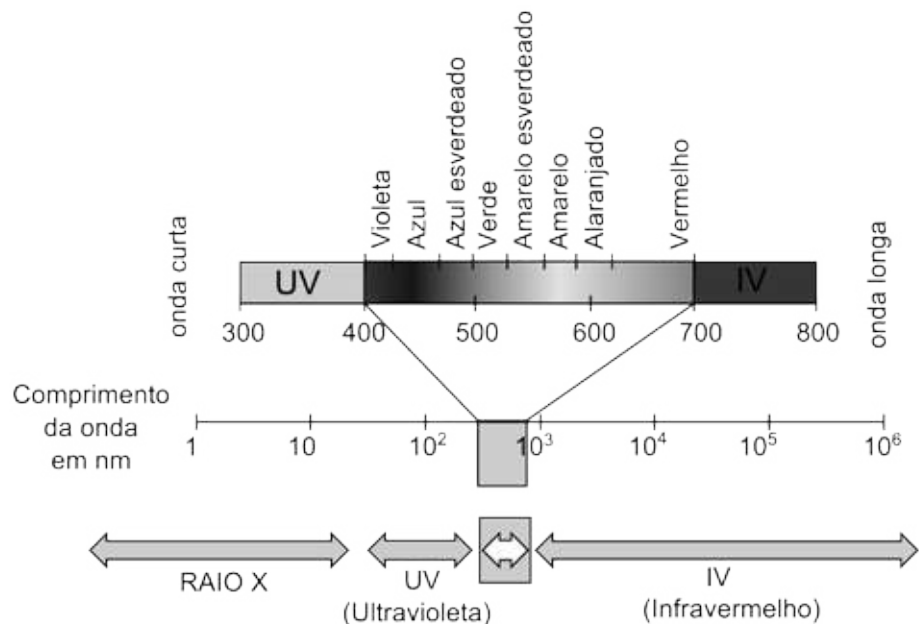


Figura 58 – Espectro de absorção da luz visível.

3.2. A luz e os pigmentos

As clorofilas absorvem luz nos comprimentos de onda que correspondem às regiões azul e vermelha do espectro, não absorvendo na região verde.

Quando a luz atinge um pigmento, ela pode ser absorvida, transmitida ou refletida. Isso explica a coloração verde das clorofilas, uma vez que elas não absorvem essa cor, elas passam a refleti-la.

Os fotossistemas possuem vários outros pigmentos, como carotenos, que absorvem em comprimentos de ondas diferentes. Esse fato aumenta a eficácia do processo, uma vez que todo espectro visível pode ser utilizado pelos tilacoides.

3.3. Transmissão de energia por ressonância

Agora vamos entender como ocorre a transdução da energia luminosa em energia química nas membranas dos tilacoides (Figura 59).

Quando um fóton de luz atinge um elétron, esse elétron fica energizado, passando do seu estado basal para um estado de energia superior, denominado de estado excitado. Nesse estado, o elétron passa a ocupar uma camada superior de energia que corresponde ao seu atual nível energético. No entanto, esse estágio é instável, e a tendência do elétron é retornar ao seu estado basal, liberando essa energia em forma de calor ou de fluorescência. Entretanto, as plantas desenvolveram um método de aproveitar essa energia, não havendo, portanto, dispersão nem na forma de luz nem na forma de calor.

Assim, a energia do fóton de luz liberada por um elétron vai ser captada por outro elétron que esteja próximo, em um processo denominado de “transferência por ressonância”. Dessa forma a energia vai sendo transferida através dos pigmentos antenas até chegar ao centro de reação. Uma vez captada por um elétron do centro de reação, esse elétron será então transferido para o primeiro aceptor de elétrons da cadeia transportada do fotossistema, cuja energia livre é bastante superior àquela da clorofila do centro de reação.

Portanto, estamos diante de uma reação de oxidorredução endergônica, em que a clorofila do centro de reação foi oxidada, e o receptor foi reduzido. Essa transferência de elétron de uma molécula com energia livre inferior para outra cuja energia livre é mais elevada só foi possível devido à adição da energia do fóton de luz.

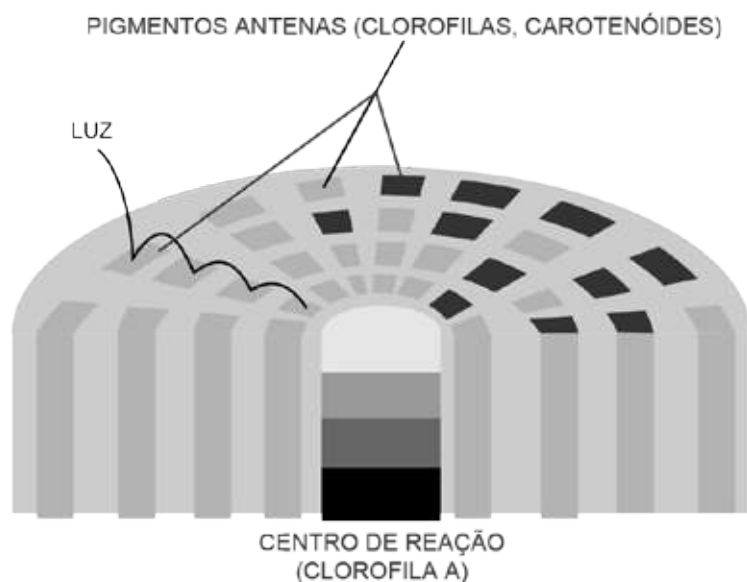


Figura 59 – Transmissão por ressonância da energia do fóton de luz.

3.4. Redução do NADP

No fotossistema I, os elétrons são carreados através de vários transportadores, sendo o último aceptor de elétrons o NADP (nicotinamida, adenina dinucleotídeo fosfato). Dessa forma, a ferredoxina reduzida doa seus elétrons para o NADP através de uma reação catalisada pela NADP-desidrogenase para formar o NADPH (Figura 60).

A vacância de elétrons do centro de reação do fotossistema I é preenchida pelos elétrons transportados através da cadeia transportadora de elétrons do fotossistema II. Portanto, o fotossistema II passa por um processo de absorção de fótons e transferência de energia homólogo ao fotossistema I. A cadeia transportadora de elétrons do fotossistema II é maior e a queda

de energia livre do elétron; quando ele flui através dessa cadeia é bem mais acentuada que aquela do fotossistema I. Por essa razão, o fotossistema II libera energia suficiente para a síntese de ATP (Figura 9.5).

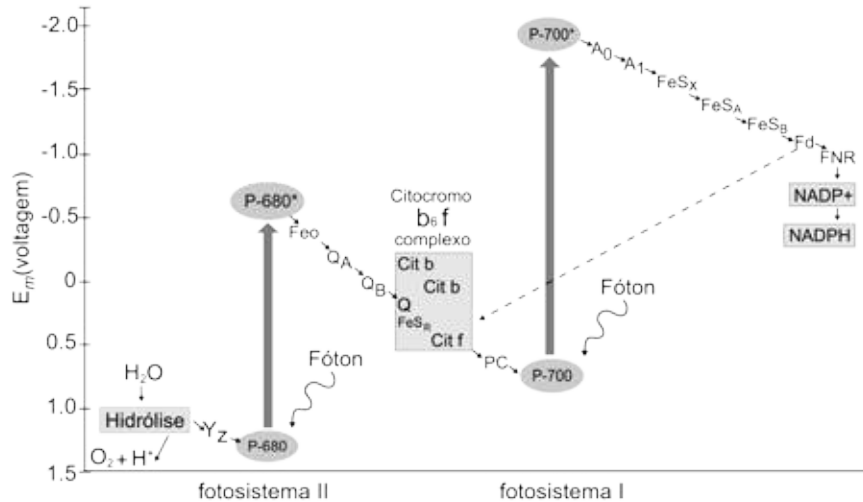


Figura 60 – Esquema geral das reações do claro.

3.5. Síntese de ATP

De forma análoga à síntese de ATP nas mitocôndrias, nos cloroplastos também se aplica a hipótese quimiosmótica de Mitchel. Portanto, a energia liberada pelos elétrons ao longo da cadeia é utilizada para bombear prótons do estroma para o espaço intratilacoidal, formando-se o gradiente de prótons que retém a força motora (protonicomotora) que dirigirá à síntese de ATP (Figura 61).

A ATP-sintetase situada nas membranas do tilacóide pertence à mesma família daquela situada nas cristas mitocondriais. Elas são, portanto, formadas pela unidade F_0 , que atravessa a membrana tilacoidal e a unidade F_1 que está voltada para o estroma. O mecanismo reacional é, portanto, bastante similar àquele utilizado para a ATP-sintetase das cristas mitocondriais. Assim, o fluxo retrógrado dos prótons em direção ao estroma, onde sua concentração é mais baixa (o pH é mais elevado) fornece a energia necessária para a formação da ligação do fosfato inorgânico com a adenosina difosfato (ADP) formando o ATP.

Note que os dois produtos das reações do claro ficam retidos no estroma onde serão utilizados nas reações do escuro, ou seja, nas reações de fixação do CO_2 atmosférico.

Você deve ter observado que o centro de reação do fotossistema II ficou oxidado quando o elétron foi transportado até o centro de reação do fotossistema I. No entanto, através de uma complexa reação envolvendo vários

elementos que formam o complexo Z, a água sofre fotólise, sendo quebrada originando para cada mol de água, 2 moles de elétrons (e^-), 2 moles de prótons (H^+) e metade de um mol de oxigênio molecular (O_2). Os elétrons irão suprir a carência do centro de reação do fotossistema II, enquanto os prótons serão transportados para o espaço tilacoidal. O oxigênio, por sua vez, é liberado para a atmosfera através dos estômatos. Como o oxigênio não é utilizado nas fases posteriores à fotossíntese, ele é denominado um subproduto da fotossíntese.

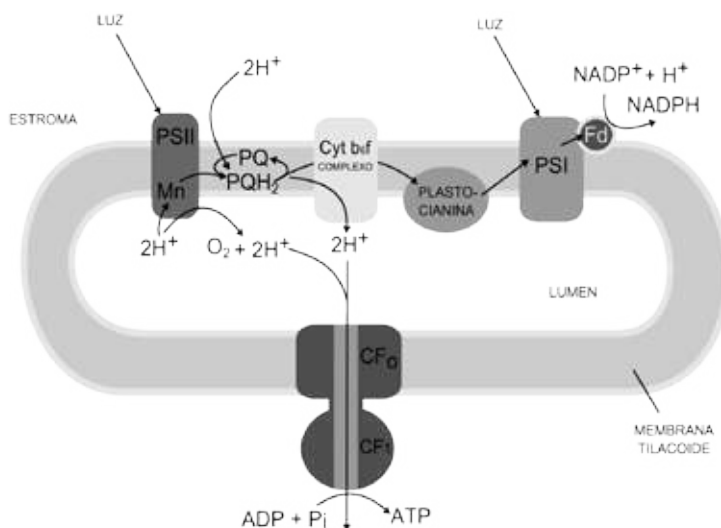


Figura 61 – Síntese do ATP através da fotofosforilação.

4. Reações do escuro

As reações do escuro consistem na fixação do CO_2 atmosférico através de um ciclo bastante complexo de reações denominado de ciclo de Calvin-Benson (Figura 62).

A primeira enzima desse ciclo é a ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Essa enzima é formada por oito subunidades, sendo quatro unidades de um polipéptido pequeno e quatro unidades de um polipéptido bastante grande. Portanto, trata-se de um octâmero formado por dois tipos de subunidades.

Para a síntese líquida de uma molécula de açúcar, são necessárias seis voltas no ciclo. Portanto, seis moléculas de ribulose 1,5 bifosfato (Rub1,5P) reagem com seis moléculas de CO_2 , resultando na formação de um composto intermediário de seis carbonos que é clivado para dar origem a seis moléculas do ácido fosfoglicérico. Os ácidos fosfoglicéricos são reduzidos utilizando-se da energia do ATP e da força redutora do NADPH, formando então seis moléculas de gliceraldeído -3P, que é na realidade o produto da fotossíntese.

Através de várias reações complexas, cinco gliceraldeído-3P são utilizadas para recuperar as três moléculas de ribulose 1,5 bifosfato que foram usadas e, assim, dar continuidade ao ciclo.

O gliceraldeído-3P pode agora ser utilizado pela célula na síntese de hexoses como glicose, frutose, galactose, na síntese de dissacarídeos como a sacarose ou até mesmo na síntese do amido (um polímero de glicose), que ocorre dentro do estroma.

Através das vias catabólicas, como a glicólise e o ciclo de Krebs, são formados vários intermediários que podem ser utilizados em vias anabólicas de aminoácidos, lipídios, bases purínicas e pirimidínicas, enfim, uma análise mais profunda das vias metabólicas mostrará que todos os esqueletos de carbono são oriundos do gliceraldeído formado na fotossíntese.

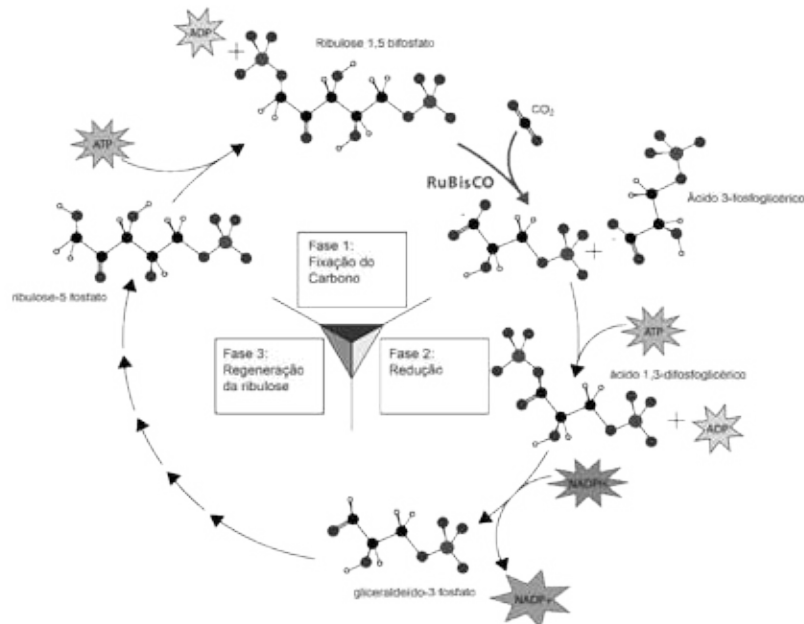


Figura 62 – Resumo do ciclo de Calvin-Benson apresentando a fixação do CO_2 , a redução do CO_2 para formar o gliceraldeído-3P e a reconstituição da ribulose 1,5 bifosfato utilizada.

5. Algumas considerações adicionais sobre o estroma

O estroma não é apenas o local onde se realizam as reações do escuro, mas também é o compartimento onde se realiza a síntese dos ácidos graxos nas plantas. Esses ácidos graxos são liberados no citosol e vão até o retículo endoplasmático não granuloso, onde eles sofrem processos de alongamento e dessaturação. É também no estroma que ocorre a síntese do amido e a síntese das proteínas codificadas pelo genoma do cloroplasto.

Como ocorre nas mitocôndrias, o estroma contém um genoma representado por um DNA circular que retém 120 genes para os mais diferentes tipos de RNA. No estroma estão bem os ribossomos responsáveis pela tradução desse genoma.

6. Origem dos cloroplastos

Os cloroplastos se originam a partir de células do tecido não diferenciado das plantas. Nessas células existem os pró-plastídios, pequenas organelas que apresentam duas membranas. Na presença da luz, a membrana interna emite vesículas e que sintetiza pigmentos, formando os cloroplastos maduros.

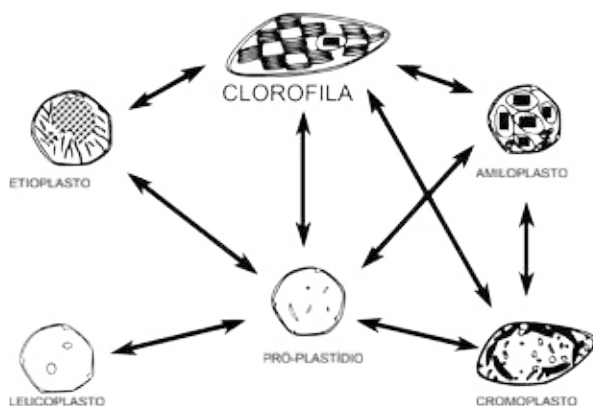


Figura 63 – Formação dos cloroplastos a partir dos pró-plastídios.

Síntese do Capítulo



Os cloroplastos são organelas responsáveis pelo processo de fotossíntese. Eles estão presentes nas plantas e em algumas algas. Essas organelas possuem um envelope composto por duas membranas, uma externa e outra interna. A membrana externa é semipermeável, possuindo canais denominados de porina que permitem a passagem de substâncias relativamente grandes.

A membrana interna é bastante seletiva e possui vários transportadores. O envelope envolve um espaço aquoso denominado de estroma, no qual se encontra outro sistema de membranas, os tilacoides. Nos tilacoides estão presentes os fotossistemas onde ocorrem as reações do claro. Os fotossistemas são compostos de pigmentos e de uma cadeia transportadora de elétrons. Nas membranas tilacoidais, se encontra também a enzima responsável pela síntese de ATP, a ATP-sintetase.

No estroma estão as enzimas das reações do escuro, também chamado de ciclo de Calvin-Benson. Essas reações são responsáveis pela fixação do CO_2 e pela sua redução, formando um açúcar, o gliceraldeído-3P.

Ainda no estroma está presente o genoma do cloroplasto, que consiste em um DNA circular e pode existir em mais de uma cópia. Esse genoma possui aproximadamente 120 genes, que codificam RNA transportadores, ribossômicos e mensageiros. Os RNA mensageiros são traduzidos por ribossomos, também presentes no estroma.

Os cloroplastos se originam a partir de pró-plastídios, mas os cloroplastos adultos podem dividir-se por fissão binária. Segundo a hipótese endossimbiótica, os cloroplastos se originaram a partir de procariontes semelhantes às cianobactérias atuais.

Atividades de avaliação



1. Faça um paralelo entre a síntese de ATP na mitocôndria e a síntese de ATP nos cloroplastos.
2. Por que, nos cloroplastos, a síntese de ATP é denominada de fotofosforilação e, nas mitocôndrias, de fosforilação oxidativa?

Referências



ALBERTS, B. et al., **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª edição, Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.

LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora: FREEMAN, 2008.

Cell Biology Graduate Program. Texas University. Disponível em: <http://cell.bio.utmb.edu/chloro2.htm>. Acessado em 05/10/2008 às 09:39 h.

Capítulo

10

Ciclo celular

Objetivos

- Conhecer os componentes do núcleo interfásico e suas respectivas funções.
- Distinguir as etapas que envolvem a divisão celular denominada de mitose.
- Compreender o processo regulatório que rege o ciclo celular.

Introdução

O ciclo celular compreende o espaço entre duas divisões. Durante a interfase, uma célula se prepara para entrar em divisão, duplicando seu DNA, suas organelas e conseqüentemente aumentando o seu volume. Em seguida, ocorre a mitose, que é uma forma de divisão celular dos eucariotas, e novamente a célula retorna à interfase completando assim o ciclo celular.

1. O núcleo celular interfásico

O núcleo celular se apresenta na interfase bem definido, podendo ser distinguidas ao microscópio eletrônico as seguintes estruturas: envelope nuclear, poro nuclear, lâmina nuclear, nucleoplasma, cromatina e o nucléolo (Figura 64).

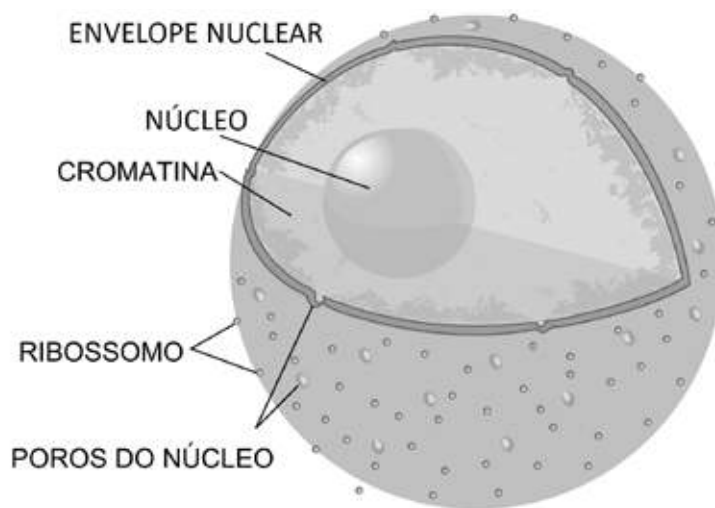


Figura 64 – Estruturas que compõem o núcleo interfásico.

1.1. Envelope nuclear

É composto por uma membrana externa e por uma membrana interna, delimitando um espaço aquoso chamado de “espaço perinuclear”. A membrana externa é contínua com a membrana do retículo endoplasmático granuloso e, como este, apresenta ribossomos aderidos a ela. Em determinadas regiões, as membranas externas e internas se fundem dando origem aos poros nucleares.

1.2. Poro nuclear

Possui um diâmetro de 100 nm e é o responsável pelo intercâmbio entre o núcleo e o citosol. Apesar do seu largo diâmetro, o poro é altamente seletivo. Essa seletividade é devida à presença de proteínas que constituem o complexo do poro. Dentre essas podemos destacar as proteínas estruturais: oito proteínas colunares atravessam todo o poro, dando um aspecto de roseta quando este é observado ao microscópio eletrônico; oito proteínas fibrosas atravessam as proteínas colunares, sendo que, do lado interno do núcleo, essas fibrilas são interligadas por outras proteínas, dando ao poro um aspecto de cesta de basquete; ainda ligadas às proteínas colunares, estão as proteínas radiais, que podem encontrar-se em conformações diferentes, aumentando ou diminuindo o diâmetro do poro, formando uma espécie de diafragma e proteínas integrais de membrana ancoram as proteínas colunares ao poro nuclear.

1.3. Lâmina nuclear

É formada pelos laminofilamentos descritos no Capítulo 5. Os laminofilamentos, por sua vez, são formados por proteínas chamadas de lâminas e se dispõem logo abaixo da membrana interna do envelope nuclear. Os laminofilamentos não estão presentes nas regiões de formação dos poros.

1.4. Nucleoplasma

É a parte aquosa do núcleo. Nele estão dissolvidos os metabólitos nucleares, as enzimas necessárias para os processos de replicação e de transcrição, os fatores de transcrição, os cofatores enzimáticos, os nucleotídeos e, ocupando quase todo o espaço do núcleo, encontra-se a cromatina.

1.5. Cromatina

Consiste nas moléculas de DNA (os cromossomos) e suas proteínas associadas. Essas proteínas podem estar relacionadas com os processos de replicação e de transcrição, mas, em sua maioria, são proteínas responsáveis pela condensação do DNA. As principais proteínas associadas ao DNA são as histonas.

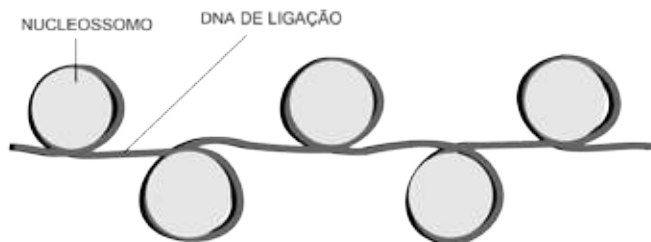


Figura 65 – Estrutura de um nucleossomo.

As histonas formam uma família de proteínas básicas, ricas em histidina e em lisina. Nos mamíferos são encontrados cinco tipos de histonas: H_1 , H_{2A} , H_{2B} , H_3 e H_4 , que se associam e promovem a condensação do DNA.

As histonas se juntam formando um octâmero que contém duas subunidades da H_{2A} , duas subunidades da H_{2B} , duas subunidades da H_3 e duas subunidades da H_4 . A esse octâmero se une a dupla hélice de DNA numa associação que se assemelha a uma linha em um carretel. Portanto, o DNA dá duas voltas em torno do octâmero, formando uma estrutura denominada de nucleossomo (Figura 65).

Cada nucleossomo possui um fragmento de DNA de 144 pb e é separado de outro nucleossomo por um fragmento de DNA de ligação. A histona H_1 , que não participa do octâmero, liga-se ao nucleossomo estabilizando-o. Além disso, as histonas H_1 são importantes na próxima etapa de condensação do DNA, onde os nucleossomos irão se ligar formando as fibras de cromatina (Figura 66).

Os diferentes graus de condensação do DNA conferem ao núcleo interfásico um aspecto granuloso. A cromatina, com menor grau de condensação, é denominada de eucromatina (cromatina verdadeira) e pode ser transcrita. Já a cromatina mais condensada é chamada de heterocromatina e não pode ser transcrita devido à inacessibilidade das RNAs polimerases.

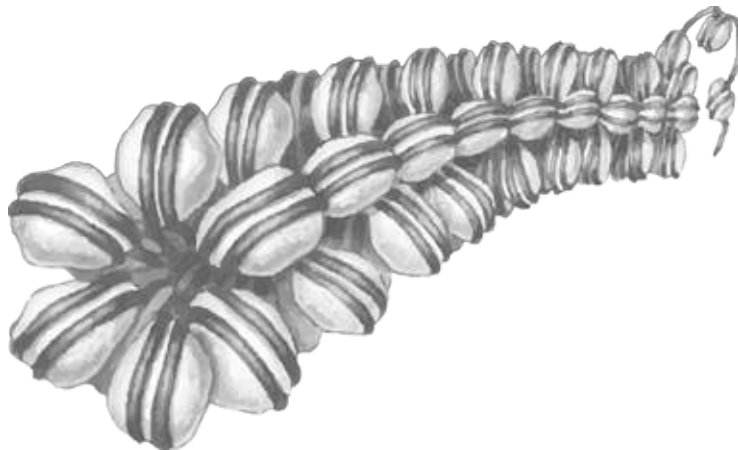


Figura 66 – Formação das fibras de cromatina de 30 nm.

1.6. Nucléolo

Existe no núcleo interfásico uma estrutura que se cora intensamente e foi denominado de nucléolo porque parecia um pequeno núcleo. O nucléolo corresponde a uma região onde existe uma grande quantidade de cópias do gene que codifica os RNAs ribossômicos.

Além do mais, nessa região, ocorre a montagem das subunidades grande e pequena do ribossomo. Portanto, as proteínas sintetizadas no citosol vão até o nucléolo e se unem aos RNAs ribossômicos formando assim as subunidades que serão transportadas para o citosol através do poro nuclear.

2. Divisão celular – mitose

2.1. Interfase

A interfase é o período entre duas divisões celulares. Embora inicialmente se acreditasse que era um período de repouso, após um estudo minucioso utilizando-se técnicas de Bioquímica e Biologia Molecular, foi possível desvendar todos os eventos que ocorrem durante esse período.

Trata-se de um momento de decisão celular, em que ela decide se entra em uma nova mitose ou permanece sem se dividir até que um evento extraordinário venha estimulá-la a fazê-lo. A interfase é dividida em três fases principais: as fases G1 e G2 (G vem da palavra inglesa *Gap* que significa intervalo) e uma fase S (S se refere à síntese de DNA), que separa as duas fases G.

a) Fase G1

Nessa fase, a célula acabou de sair de uma divisão e precisa fazer uma checagem para averiguar se tudo aconteceu da forma prevista. Isso significa que é necessária uma análise apurada do seu DNA em busca de alguma mutação ou outro tipo de dano. A célula só poderá entrar em um novo ciclo de divisão se o seu DNA foi transcrito de maneira correta.

Feita a checagem e com a recepção de estímulos externos que induzem a divisão, a célula adentra numa profunda atividade de síntese proteica. Essas proteínas estão principalmente relacionadas com a replicação do DNA, que ocorrerá na fase S, como por exemplo, as DNA-polimerases, as topoisomerases, iniciases, proteínas ligantes de DNA-fita simples, entre outras.

b) Fase S

É nessa fase que ocorre a duplicação do DNA, processo conhecido também como replicação. Todos os cromossomos serão duplicados praticamente ao mesmo tempo. Diferente dos procariontes, que possuem apenas uma origem de replicação, os cromossomos dos eucariontes possuem várias origens de

replicação, o que aumenta a velocidade do processo. A síntese do DNA é um processo bastante minucioso, sendo que dificilmente ocorre um erro na replicação dos cromossomos. Mas, se, por acaso, isso acontecer, a célula possui um complexo e eficiente sistema de reparo do DNA, o que garante a reprodução exata do material genético da célula em divisão. Nessa fase, a transcrição diminui bastante devido à falta de acesso das RNA-polimerases.

c) Fase G2

Nessa fase o DNA já se encontra replicado, e a velocidade de síntese de proteínas aumenta novamente. As proteínas sintetizadas nessa fase estão principalmente relacionadas com o processo de divisão celular, bem como com a produção de organelas, o que faz a célula aumentar bastante o seu volume. Antes de iniciar a mitose, a célula já tem duplicado o seu centríolo, assim como os centríolos.

2.2. Mitose

A palavra “mitose” vem do Latim, em que *mitos* significa filamentos, em alusão à condensação contínua dos cromossomos, que passam a ser vistos como grossos filamentos no núcleo. A divisão celular ocorre de forma gradativa cuja velocidade varia de acordo com o tipo de célula (Figura 10.4). A seguir, serão descritas as diferentes fases da mitose.

a) Prófase

Os cromossomos começam a se condensar podendo ser vistos como filamentos emaranhados que vão tornando-se cada vez mais definidos à medida que a prófase prossegue. Através da ação de quinases, começa o processo de fosforilação de proteínas essenciais para o prosseguimento da divisão celular.

A fosforilação da histona H_1 , por exemplo, é determinante para o início da condensação dos cromossomos, e a fosforilação das lâminas que compõem os laminofilamentos vão provocar a desintegração da lâmina nuclear, favorecendo o rompimento do envelope. No citossol, também por ação de quinases, ocorre a despolimerização dos filamentos que compõem o citoesqueleto. Os microtúbulos são agora recrutados para a formação do fuso mitótico. À medida que as fibras do fuso crescem, elas empurram para direções opostas os centríolos e os respectivos pares de centríolos que os ocupam.

b) Pró-metáfase

Nessa fase, os cromossomos continuam cada vez mais condensados. Os cromossomos replicados estão unidos por proteínas e essa união é bem mais forte na região dos centrômeros. Os dois cromossomos são chamados de cromáti-

des-irmãs. Os centrômeros são em grande parte formados por um DNA repetitivo denominado de DNA satélite. No entanto, encontramos aí vários genes que codificam as proteínas que irão formar os cinetócoros.

Cinetócoros são estruturas compostas por proteínas e por pequenas moléculas de RNA nuclear (snRNA). Ao microscópio eletrônico, eles apresentam uma estrutura trilaminar e estão firmemente acoplados ao DNA do centrômero. Cada cinetócoro se encontra voltado para um lado oposto da célula e se ligará às fibras do fuso mitótico. Existem três tipos de fibras do fuso: as fibras de áster (ausentes na mitose das células vegetais), as fibras cinetocóricas que se ligarão aos cinetócoros e as fibras polares, que se ligarão às fibras polares do polo oposto. No fim da pró-metáfase, o envelope nuclear se rompe permitindo o acesso das fibras cinetocóricas aos cinetócoros.

c) Metáfase

À medida que as fibras cinetocóricas crescem, elas empurram os cromossomos para a região equatorial das células. A metáfase é caracterizada principalmente pela posição dos cromossomos no centro da célula. Nesse momento, as fibras polares também se encontram na região equatorial unidas por proteínas motoras similares às dineínas. As fibras de áster encontram-se unidas à membrana plasmática e acredita-se que desempenham algum papel na separação das cromátides-irmãs, que ocorre na anáfase.

d) Anáfase

O que caracteriza essa fase é a separação das cromátides-irmãs, que migrarão para os polos opostos da célula onde formarão novos núcleos. Duas forças são responsáveis por essa separação. A primeira está relacionada com o encurtamento das fibras cinetocóricas devido à despolimerização dos microtúbulos. Através de proteínas motoras, os cinetócoros deslizam ao longo das fibras transportando uma cromátide. À medida que as extremidades das fibras vão sendo descobertas, elas começam a se despolimerizar. Por outro lado, as fibras polares aumentam de tamanho, alongando a célula, dessa forma, distanciando os dois pólos opostos.

e) Telófase

As fibras polares também começam a se despolimerizar, ficando apenas na região equatorial da célula os fragmentos que estão unidos por proteínas motoras. Daí em diante, começa o processo de descondensação dos cromossomos e a formação do envelope nuclear através da fusão das vesículas pré-existentes ou então recém-formadas pelos sistemas de endomembranas. O nucléolo reaparece.

rece, e as organelas são distribuídas de forma equitativa, de tal forma que as células-filhas herdarão aproximadamente as mesmas quantidades de organelas.

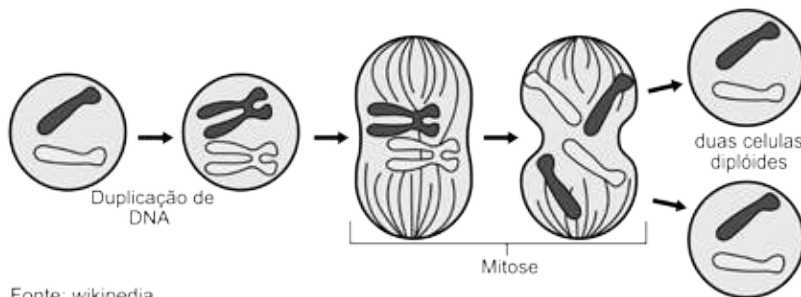
f) Citocinese

A divisão citoplasmática ocorre de forma diferente entre as células vegetais e os animais. Nas células animais, os resquícios das fibras polares servirão como guia para a formação do anel contrátil. Esse anel é formado por fibras de actina intercaladas por fibras de miosina que se formam logo abaixo da membrana plasmática na região equatorial da célula.

À medida que as fibras de miosina se deslizam sobre as fibras de actina, a região equatorial vai ficando cada vez mais estreita. O processo de estreitamento é também facilitado pela despolimerização das fibras de actina. Dessa forma, o sulco na região equatorial vai se aprofundando cada vez mais, embora ainda não esteja bem esclarecido como ocorre a separação final das duas células-filhas.

Nas células vegetais, como nas células animais, são os resquícios das fibras polares que vão guiar o local da separação das células filhas. Eles são chamados de fragmoplastos. Dessa forma, os sáculos lameliformes do complexo golgiense recém-formados começam a emitir vesículas em direção à região equatorial da célula. Essas vesículas começam a se fundirem do centro da célula em direção à membrana plasmática.

As vesículas contêm substâncias que formarão a lamela média, que dará origem à parede celular. Na membrana das vesículas, encontram-se enzimas que são responsáveis pela síntese da parede, ou seja, vão produzir celulose, pectinas, ligninas etc.



Fonte: wikipedia

Figura 67 – Diferentes etapas da divisão celular (mitose).

3. Controle do ciclo celular

A divisão celular é um processo altamente regulado, principalmente na embriogênese, em que à medida que elas se dividem, também se diferenciam e ocupam posições específicas. Mesmo depois do organismo formado, o processo de divisão celular juntamente com a apoptose (morte celular programada) são essenciais na manutenção da integridade e do funcionamento do organismo.

Após a fecundação do ovócito, o ovo ou zigoto começa a se dividir rapidamente, aumentando o número de células, mas sem aumento do volume. Essa divisão recebe o nome de clivagem, e a interfase consiste simplesmente da fase S, não havendo praticamente síntese de proteínas, o que explica a redução no tamanho das células-filhas. Existem ainda células que se dividem de forma constante, como, por exemplo, as células do epitélio de descamação. Outras células se dividem mais lentamente, como os fibroblastos.

Algumas células se dividem somente após receberem um estímulo, como os hepatócitos. Nesse caso, as células normalmente não se dividem, mas, quando o fígado sofre algum dano ou alguma parte sua é removida, aquelas células vizinhas ao local de excisão recebem um estímulo e começam a se dividir, com o intuito de recuperar o tecido que foi perdido. Existem ainda células que uma vez diferenciadas perdem totalmente a capacidade de se dividir. Os neurônios, as células musculares esqueléticas e os miócitos são exemplos dessas células. Nesse caso dizemos que a célula entrou para um estado denominado G₀.

3.1. Ciclinas

As ciclinas receberam essa denominação devido à periodicidade da sua concentração dentro das células, ou seja, elas têm o seu teor elevado em determinado momento, devido a um aumento das suas sínteses e, em seguida, essas concentrações diminuem devido à hidrólise dessas proteínas nos proteossomos¹⁴.

Cientistas perceberam que o aumento da concentração das ciclinas coincidia com estágios do ciclo celular, ou seja, algumas ciclinas aumentavam durante a interfase enquanto outras aumentavam durante o processo mitótico. Posteriormente, verificou-se que as ciclinas se associavam a umas enzimas quinases, ativando-as. Essas enzimas foram então denominadas de quinases dependentes de ciclina (CDK), e seu papel na regulação da divisão celular foi amplamente decifrado.

¹⁴Proteossomo é um grande complexo proteico localizado no citosol, responsável pela degradação de proteínas citosólicas que foram “marcadas” para destruição pela ligação com uma molécula de ubiquitina.

3.2. Quinases dependentes de ciclinas

Existem mais de um tipo de quinase CDK, que atuam em fases diferentes do ciclo (Figura 68). Podemos citar a CDK2, que é ativada pela ciclina C1, formando um complexo responsável pela entrada da célula na fase S. Isso significa que ela vai atuar ativando enzimas e outras proteínas que são essenciais para a replicação do DNA. Passada essa fase, a C1 diminui, e a CDK2 volta para sua forma inativa.

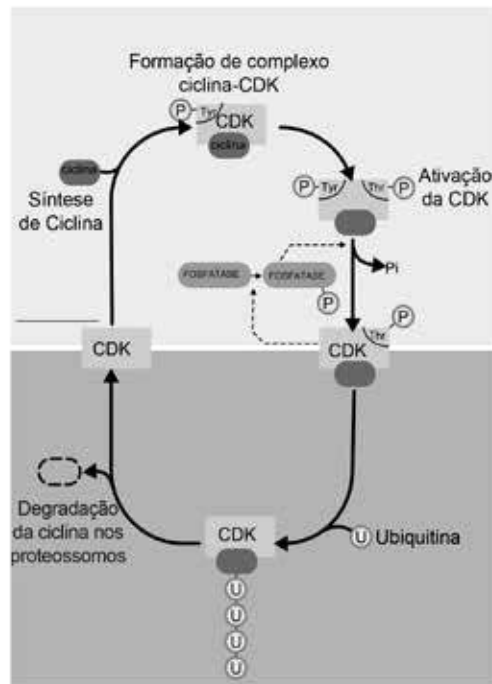


Figura 68 – Esquema geral do controle do ciclo celular pelas ciclinas e pelas quinases dependentes de ciclina.

No início da fase G2, começa a síntese de um outro tipo de ciclina, a C2, que irá ativar outra CDK, a CDC2 responsável pela passagem da célula para a mitose. No tópicio Prófase foram relacionadas algumas proteínas que são fosforiladas pela CDC2 e que são determinantes no prosseguimento da mitose.

Existem várias outras proteínas, além das CDKs, que regulam a divisão celular, seja estimulando o processo ou inibindo-o. A proteína p53 (o nome refere-se ao peso molecular de 53 kDa) é responsável pela checagem da integridade do DNA (Figura 69). Portanto, se na fase G1 for detectada alguma mutação no DNA, a célula não poderá entrar na fase S antes de reparar seu DNA. Caso ela não consiga fazê-lo, a p53 atuará de uma outra

forma. Ela induzirá a célula a entrar em apoptose. Outra proteína importante na regulação da divisão celular é a Rb (proteína encontrada em um tipo de tumor chamado de retinoblastoma).

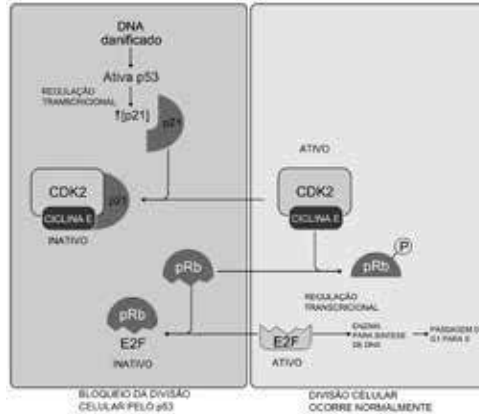


Figura 69 – Papel das proteínas p53 e Rb no controle do ciclo celular.

3.3. Proto-oncogenes

Qualquer mutação em um gene responsável pelo controle da proliferação celular pode levar a uma proliferação desordenada das células, transformando-as em células malignas, que darão origem aos tumores. Os genes para essas proteínas são chamados de proto-oncogenes, devido ao fato de serem passíveis de se transformarem em oncogenes.

Na realidade, são necessárias várias mutações para que uma célula venha a ser transformada, mas, dependendo do gene mutado, o processo pode ser acelerado. Alguns exemplos de proto-oncogenes são

- Gene da proteína p53;
- Gene da proteína Rb;
- Genes dos fatores de crescimento;
- Genes dos receptores dos fatores de crescimento.

Síntese do Capítulo



O núcleo interfásico é envolto por um sistema de dupla membrana denominado de envelope nuclear. Nesse envelope se encontram os poros responsáveis pelo intercâmbio entre o núcleo e o citoplasma. Abaixo da membrana interna, está a lâmina nuclear formada pelos laminofilamentos. A parte aquosa do núcleo é denominada de nucleoplasma. Nela estão distribuídos os cromossomos lineares associados às proteínas básicas, formando a cromatina.

O ciclo celular tem início na interfase, prossegue através da divisão celular (mitose) e termina na próxima interfase.

A interfase se divide em três partes: G1, S e G2. Na fase G1, ocorre intensa síntese de proteína, e a célula decide se vai se dividir ou não. Após analisar se o seu DNA está intacto, a célula parte para a fase S, na qual ocorre a replicação de todo o genoma, havendo pouca síntese de proteína. Na fase G2, a célula continua a síntese de proteínas, aumenta o seu tamanho e todas as organelas são duplicadas.

A mitose também é dividida em etapas que ocorrem de forma gradual. Portanto, primeiramente vem a prófase, em que tem início a condensação dos cromossomos que podem ser vistos como grossos filamentos. No citosol, ocorre o desmembramento do citoesqueleto e a formação do fuso mitótico. A prófase termina com o rompimento do envelope nuclear.

Na metáfase, os cromossomos atingem a sua condensação máxima e são empurrados para a região equatorial das células pelas fibras cinetocóricas, que estão ligadas às regiões centroméricas dos cromossomos. Na anáfase, as cromátides-irmãs são separadas e se encaminham para os polos opostos da célula. A telófase é o inverso da prófase, em que ocorre a descondensação da cromatina e o reaparecimento do envelope nuclear. A citocinese ocorre de forma diferenciada entre as células vegetais e animais.

O ciclo celular é altamente regulado, principalmente pelas ciclinas, cujas concentrações variam de acordo com o estágio do ciclo. Essas proteínas se associam às enzimas quinases, ativando-as. As quinases ativadas vão fosforilar proteínas-chaves da divisão celular, como as lâminas, histona H1 e proteínas do citoesqueleto.

Existem também as proteínas que regulam de forma negativa a divisão celular, como a proteína Rb que inibe a proliferação celular. Esse controle é importante, pois impede a divisão exacerbada das células, como ocorre nas células transformadas (cancerígenas).

Atividades de avaliação



1. Quais são as partes que compõem o núcleo interfásico?
2. Como ocorre o intercâmbio de proteínas entre o núcleo e o citosol?
3. O que você entende por cromatina?
4. Por que o nucléolo aparece mais corado que o resto da cromatina?
5. Descreva as diferentes fase da interfase.

6. Por que algumas células se dividem constantemente e outras raramente o fazem?
7. Descreva as diferentes fases da mitose. Faça desenhos para ilustrar cada fase.
8. Sintetize a forma como a divisão celular é regulada.

Referências



- ALBERTS, B. et al., **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª edição, Porto Alegre: Editora Artmed. 2006.
- DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.
- LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.

Capítulo

11

Comunicação celular

Objetivos

- Conhecer os processos de sinalização que ocorrem entre as células de um mesmo tecido e de tecidos diferentes.
- Identificar as diferentes moléculas ligantes e os principais receptores.
- Compreender o mecanismo de ação dos diferentes receptores e as respostas desencadeadas dentro das células.

Introdução

Como falamos no Capítulo 1, as células trabalham de forma integrada, coordenando as atividades umas das outras. Portanto, a comunicação é essencial na regulação do trabalho celular.

Você pode se comunicar através de gestos, falando diretamente com a outra pessoa, por internet ou até mesmo usando um telefone; enfim, você possui uma infinidade de métodos para se expressar. Quando se comunica, você pode simplesmente contar um fato que lhe aconteceu ou que você soube através de algum meio de comunicação ou então pode pedir à outra pessoa para realizar alguma tarefa.

A célula também se comunica, seja simplesmente fiscalizando o andamento das funções do organismo ou pode demandar outras células de realizar algum trabalho. No entanto, a célula não fala como você nem navega na internet, por isso, ela precisa de outro meio de comunicação. Ela utiliza moléculas como meio de sinalização. Neste capítulo, descreveremos como essas moléculas interagem com as células induzindo-as a uma resposta que vai desde a síntese de uma substância à proliferação celular ou até mesmo induzir a célula a entrar em apoptose.

1. Natureza dos sinais químicos

As moléculas sinalizadoras são denominadas de “sinais químicos”, “indutores” ou “ligantes”. A denominação “ligante” vem do fato de elas se ligarem a outras moléculas presentes na célula de interesse, e indutores, porque induzem uma resposta nessa célula. A célula que emite o sinal é chamada de célula indutora e a que vai receber o sinal, é a célula-alvo.

A natureza do ligante varia bastante, podendo ser proteínas, pequenos peptídeos, derivados de aminoácidos, lipídios e até mesmo gases como o óxido nítrico (NO).

2. As células apresentam diferentes tipos de receptores

As moléculas presentes na célula-alvo as quais os indutores se ligarão tratam-se dos receptores, dos quais falamos brevemente no capítulo sobre membranas. No entanto, além dos receptores presentes nas membranas, existem receptores presentes no citosol ou até mesmo dentro do núcleo. Na realidade, os receptores são proteínas que podem ser moléculas transmembranares ou solúveis no citoplasma (Figura 70).

Embora os receptores apresentem certo grau de especificidade para os seus ligantes, eles demonstram similaridades, podendo ser agrupados em famílias. Existem vários grupos de receptores membranares, dentre eles podemos citar dois grandes grupos: os receptores ligantes de proteína G e os receptores tirosina-quinases (Figura 70).

Normalmente, os receptores localizados dentro da célula possuem ligantes de natureza lipídica que atravessam facilmente a membrana, como os esteróis, os hormônios derivados de aminoácidos hidrofóbicos e os gases.

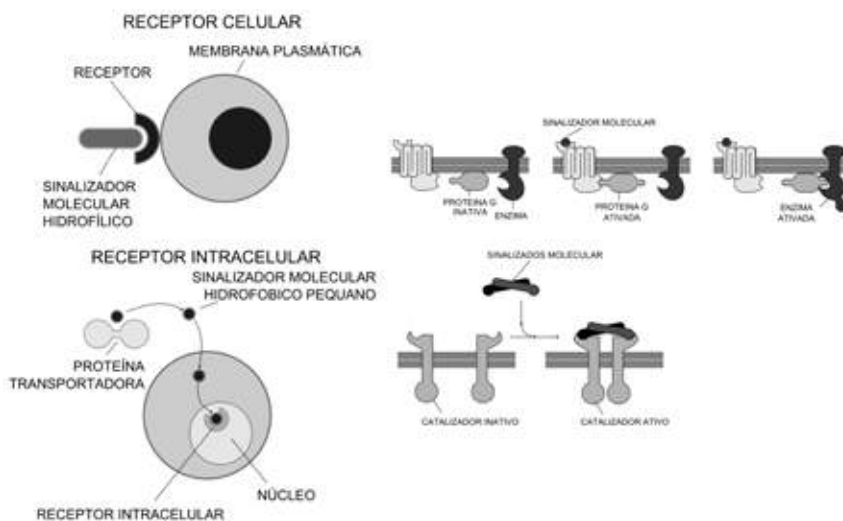


Figura 70 – A figura da esquerda apresenta os dois tipos de receptores: aqueles situados na membrana e, portanto, possui como ligantes substâncias polares e aqueles intracelulares cujos ligantes possuem natureza hidrofóbica. Na figura à direita, estão representados os dois tipos principais dos receptores de membrana.

3. Diferentes tipos de comunicação

A célula-alvo pode estar próxima da célula indutora e, portanto, o sinal percorrerá apenas uma pequena distância para alcançá-la. No entanto, a célula indutora pode pertencer a um tecido ou, mesmo, a um órgão diferente daquele da célula-alvo e, neste caso, o sinal terá que se deslocar a uma distância

maior. De acordo com a distância entre a célula indutora e a célula-alvo, podemos classificar a comunicação celular nos seguintes tipos.

- **Endócrina:** o ligante é produzido em um local distante de onde ele irá atuar e, portanto, ele será transportado até a sua célula-alvo através da circulação sanguínea. Nesse tipo estão os hormônios secretados pelas glândulas endócrinas ou neuroendócrinas.
- **Parácrina:** a célula indutora se situa próximo da célula alvo e, portanto, o ligante deverá mover-se apenas por uma pequena distância para ligar-se ao seu receptor. Um bom exemplo desse tipo de sinalização ocorre entre os linfócitos T auxiliar e linfócitos T citotóxicos. O linfócito T auxiliar produzirá citocinas (interleucinas), que irão estimular a proliferação das células T citotóxicas. Existe uma situação bastante interessante na qual a interleucina irá agir não somente sobre o linfócito T citotóxico, mas também sobre o próprio linfócito que o produziu. Isso significa que esse linfócito possui o receptor contra a interleucina produzida por ele e nesse caso teremos uma sinalização **autócrina**.
- **Neurotransmissão:** os neurônios formam sinapses com outros neurônios ou com células musculares nas placas motoras. Nessas sinapses, são liberados neurotransmissores que irão ligar-se às células alvo que fazem parte da sinapse. Se considerarmos a pequena espessura de uma sinapse, diríamos que se trata de uma sinalização parácrina. No entanto, existe outro ponto a ser considerado: os neurotransmissores são produzidos no corpo do neurônio e, mesmo sem deixar a célula, podem percorrer uma distância de quase um metro até chegar ao fim do axônio onde será liberado. Por isso, essa sinalização recebe a denominação especial de neurotransmissão.
- **Contato célula a célula:** nesse caso tanto o ligante como o receptor são proteínas integrais de membrana e é necessário o contato íntimo das duas células para que haja a transmissão do sinal. Esse tipo de sinalização é comum durante a formação do embrião, formação dos tecidos e na apoptose que será discutida adiante teremos um exemplo de sinalizador transmembranar.

4. Receptores ligantes de proteína G

Essa família de receptores se caracteriza por atravessar a membrana sete vezes. Quando ativadas por um ligante específico, esses receptores adquirem afinidade pela proteína G. Esta se trata de uma proteína periférica de membrana composta de três subunidades: a subunidade α , a β e a γ . A subunidade α possui um nucleotídeo GDP ligado covalentemente a ela. Quando o receptor se liga à proteína G, ocorre uma permutação no GDP da subunidade α que é substituído pelo GTP. A ligação com esse novo nucleotídeo leva a subunidade α a se sepa-

rar do trîmero, ficando agora apenas o dîmero $\beta\gamma$. A subunidade α ligada ao GTP vai funcionar como um mensageiro secundário ativando enzimas presentes na célula, como a fosfolipase-C e a Adenilil ciclase (Figuras 71 e 72).

Uma vez ativa, a fosfolipase-C vai degradar um lipídeo de membrana, o fosfatidilinositol, formando o diacilglicerol (DAG), que continua incorporado à membrana e o inositol trifosfato (IP3) que é liberado no citosol. O IP3 irá se ligar aos canais de cálcio no retículo endoplasmático não granuloso, provocando a liberação desses íons. O Ca^{2+} , por sua vez, irá estimular as quinases C (dependentes de cálcio), que, por sua vez, irá fosforilar outras quinases amplificando, dessa forma, a resposta celular (Figura 71).

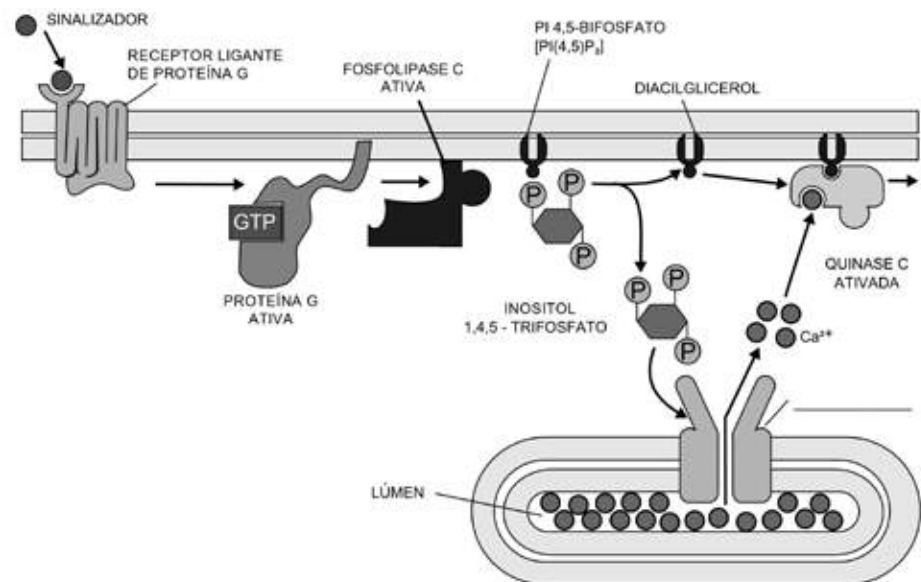


Figura 71 – A figura apresenta a transdução da resposta via receptor ligante de proteína G, que leva à ativação da fosfolipase C com a formação do diacilglicerol (DAG) e o inositol tri-fosfato (IP3).

O processo de adicionar grupamento fosfato (fosforilar) a macromoléculas, principalmente a proteínas é um importante mecanismo que as células desenvolveram para ativar ou desativar essas substâncias. As quinases são enzimas responsáveis pela transferência de um grupamento fosfato do ATP para outra molécula, ocasionando sua ativação ou desativando-a. Portanto, as quinases, são enzimas-chaves no controle das funções celulares.

A subunidade α pode também estimular a enzima adenilato ciclase, responsável pela síntese do cAMP, a partir do ATP. O cAMP é um importante mensageiro secundário que ativa várias quinases do tipo A (dependentes de cAMP) (Figura 72).

Vejamos um exemplo prático desse tipo de comunicação. Você já deve ter ouvido falar que, quando fazemos esportes aeróbicos, há um aumento no

sangue de um hormônio chamado adrenalina (epinefrina). A adrenalina é um indutor de receptores ligantes de proteína G. Portanto, a adrenalina se liga a esse receptor, desencadeando dentro da célula um aumento de cAMP.

Nas células musculares, assim como nos hepatócitos, a glicose é armazenada em pequenos grânulos de glicogênio (um polímero da glicose). O cAMP formado em resposta ao aumento do esforço físico irá ligar-se a uma quinase ativando-a. Essa quinase por sua vez irá fosforilar outra enzima, responsável pela quebra do glicogênio em unidades de glicose 1-P. Os monômeros de glicose liberados serão degradados pelo processos metabólicos vistos no capítulo referente às mitocôndrias, fornecendo ATP para o organismo se refazer do esforço muscular ao qual foi submetido.

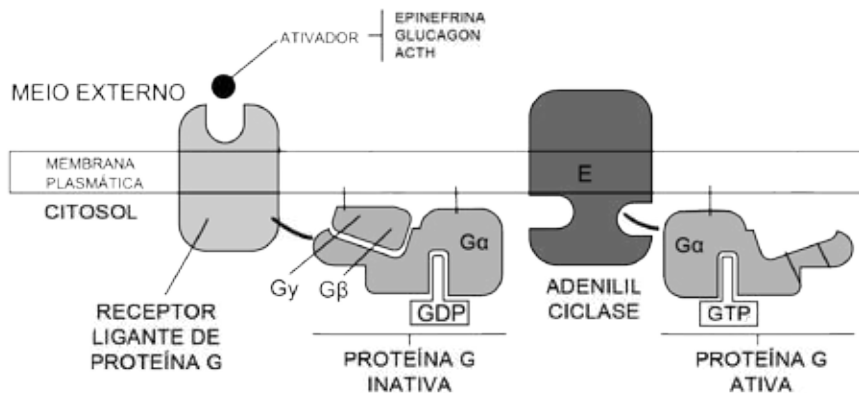


Figura 72 – A figura apresenta a transdução da resposta via receptor ligante de proteína G, que leva à ativação da adenilil ciclase, que levará formação do mensageiro secundário cAMP.

5. Recetores tirosina-quinase

Esse outro importante receptor está relacionado mais estreitamente com a proliferação celular. Os seus ligantes em sua maioria são proteínas denominadas de fatores de crescimento. Essas proteínas foram denominadas de acordo com o tipo de célula na qual elas atuavam ou então da célula que a secretava.

Alguns exemplos de fatores de crescimento são: PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), EGF (fator de crescimento do epitélio), EVGF (fator de crescimento de células do endotélio vascular), NGF (fator de crescimento dos neurônios), HGF (fator de crescimento dos hepatócitos), até mesmo o hormônio insulina pode funcionar como um fator de crescimento, ligando-se aos receptores tirosina quinases.

Esses receptores recebem esse nome devido ao fato de serem quinases que fosforilam de forma específica os resíduos de tirosina das proteínas-alvo. A Figura 73 mostra as tirosinas, que terão a hidroxila de suas cadeias laterais substituídas por fosfatos.

Os receptores tirosina quinase são formados por duas subunidades separadas que atravessam a membrana plasmática. O indutor se liga a essas subunidades, formando uma ponte entre as subunidades separadas, unindo-as. Essa união ativa a capacidade enzimática desse receptor, sendo que uma subunidade começa fosforilar a outra subunidade. Uma vez fosforiladas, essas subunidades irão ativar outras quinases, desencadeando uma resposta quase sempre relacionada com a divisão e diferenciação celular.

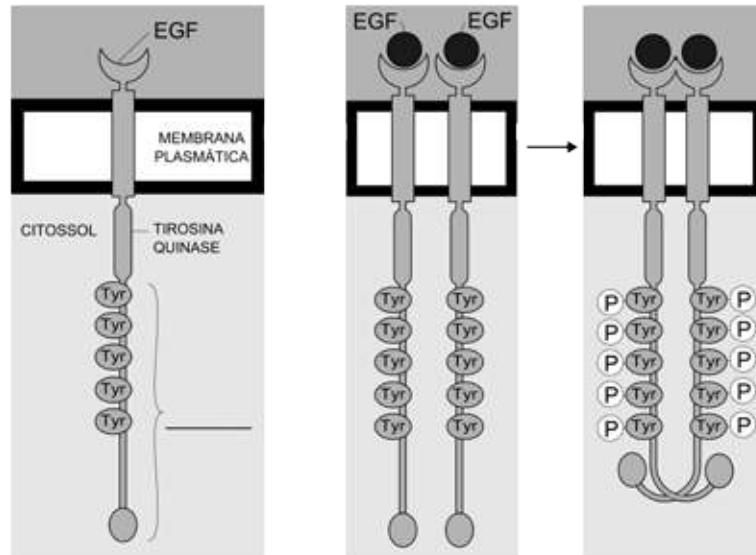


Figura 73 – A ligação de sinalizadores (normalmente fatores de crescimento) às subunidades do receptor tirosina quinase leva à formação do dímero que, através de um processo de autofosforilação, se torna ativo iniciando a cascata de reações que determina a transdução do sinal.

6. Receptores guanilato ciclase

A enzima guanilato ciclase funciona como receptor enzimático, existindo sob duas formas: uma localizada na membrana plasmática e a outra solúvel no citoplasma (Figura 74). A forma citosólica dessa enzima possui um grupamento heme ao qual pode ligar-se o NO. O NO é produzido pelas células endoteliais dos vasos a partir do aminoácido arginina por ação de uma enzima chamada óxido nítrico sintase.

Esse gás se difunde através da membrana plasmática e vai atuar nas células musculares não estriadas do próprio vaso. Nessas células eles se ligam a guanilato ciclase induzindo a formação de um mensageiro secundário: o cGMP. Esse indutor vai então ativar várias moléculas relacionadas com o relaxamento muscular, diminuindo, dessa maneira, a pressão nos vasos.

No que concerne a forma transmembranar, ela também está relacionada com a diminuição da pressão arterial, porém utilizando um outro me-

canismo. As células auriculares produzem um hormônio chamado de “fator natriurético” (ANF), que se liga aos receptores guanilato ciclase presentes nas células dos rins responsáveis pela excreção do sódio. Uma diminuição da pressão osmótica é responsável pela diminuição da pressão arterial.

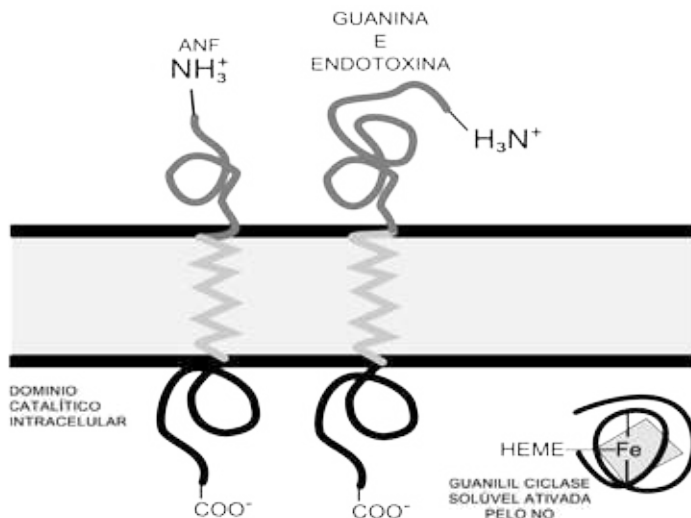


Figura 74 – Receptores guanilato ciclase transmembranares e citosólicos e seus respectivos ligantes.

Síntese do Capítulo



As células se comunicam através de moléculas que se ligam a receptores e induz uma resposta que pode ser simplesmente a expressão de uma proteína ou a proliferação ou até mesmo à morte celular (apoptose).

Os sinais podem ser moléculas complexas, como proteínas, pequenos peptídios, lipídios, nucleotídios (cAMP, cGMP) ou até mesmo gases como o óxido nítrico.

Os principais receptores presentes na membrana são: receptores ligantes de proteína G, receptores tirosina-quinase, serina-treonina-quinase e guanilil ciclase. Para os ligantes de natureza lipídica, normalmente os receptores estão localizados no citosol ou no núcleo.

Quando as moléculas sinais são produzidas longe da célula-alvo, temos a sinalização endócrina. No caso de o sinal ser produzido perto da célula-alvo, a sinalização é dita parácrina. Um tipo peculiar de sinalização ocorre quando a própria célula que produziu o sinal apresenta receptor para o mesmo. Nesse caso, temos a sinalização autócrina.

Atividades de avaliação



1. Qual é a importância da comunicação celular para os organismos pluricelulares?
2. Cite exemplos de moléculas sinalizadoras.
3. Descreva o mecanismo de resposta dos receptores ligantes de proteína G.
4. Determine a importância da comunicação celular na embriogênese.
5. Como o óxido nítrico induz o relaxamento muscular?

Referências



ALBERTS, B. et al., **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª edição, Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.

LODISH, H. et al. **Molecular Cell Biology**, 6ª ed. USA: Editora FREEMAN, 2008.
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/C/CellSignaling.html>

Capítulo

12

Diferenciação celular e apoptose

Objetivos

- Compreender os passos que conduzem à formação de um organismo pluri-celular tomando como base o controle da expressão gênica como principal subsídio para a diferenciação celular que leva ao desenvolvimento de um organismo completo.
- Conhecer as motivações que induzem uma célula a desencadear sua própria morte; quais são os sinais externos que sinalizam o momento da apoptose; como agem as caspases e o papel dos macrófagos na morte celular programada.

Introdução

A principal característica dos organismos é a capacidade de reproduzir uma cópia de si mesmo ou de reproduzir outro organismo semelhante. Um fato que sempre fascinou o ser humano foi o intrigante processo que envolve a formação de um novo ser a partir de uma única célula, o ovo ou zigoto.

Todos nós sabemos que essa célula é formada a partir da fusão de duas células haploides, os gametas, em um processo denominado de fecundação. No entanto, ainda existe muita especulação a respeito de como uma única célula é capaz de originar todas as diferentes células especializadas que compõem o organismo de forma altamente ordenada.

Quando falamos no ciclo celular, dizemos que ele começa com a interfase, em que todo material celular é duplicado, continua-se com a mitose até chegar novamente na interfase. Entretanto, a capacidade das células de se dividirem é limitada e chega um momento em que ela sai do circuito de divisão, se destaca das outras células e morre. Esta morte celular programada recebe o nome de “apoptose”.

1. Histórico

Alguns cientistas supunham que o processo de diferenciação celular era o resultado de uma perda de material genético, ou seja, eles acreditavam que as células perdiam a capacidade de expressar determinadas proteínas porque, à medida que amadureciam, iam perdendo os genes que codificavam aquelas proteínas. No entanto, experimentos com ovos de rã

mostraram que núcleos de células somáticas de embriões quando colocados em um ovócito que teve seu núcleo previamente extirpado era capaz de originar um novo embrião, demonstrando, portanto, que uma célula em avançado estado de diferenciação ainda continha as informações completas para gerar um novo ser.

Entretanto, o fato de os experimentos serem realizados com embriões deixava muitas dúvidas. Portanto, era necessário o uso de uma célula totalmente diferenciada para se certificar que nenhuma parte do genoma tinha sido perdida. Isso ocorreu em 1996, quando o mundo inteiro pôde assistir ao nascimento do primeiro clone mamífero, a ovelha Dolly. O escocês Ian Wilmut, do Instituto Roslin, de Edimburgo, juntamente com a empresa de biotecnologia PPL Therapeutics conseguiram demonstrar que era possível clonar um mamífero a partir de uma célula somática diferenciada.

Para clonar Dolly, células mamárias foram removidas de uma ovelha “Finn Dorset”, que tinha a cor da pelagem branca. As células foram mantidas em um meio pobre de nutrientes, o que levou essas células a se retirarem do ciclo celular, entrando no estado G0 (recorde o ciclo celular).

Núcleos dessas células foram fundidos com células-ovo enucleadas de uma outra ovelha de raça “Scottish Blackface”, de cor escura, através de um processo denominado “eletrofusão”. Em seguida, as células foram estimuladas a voltarem a entrar no ciclo celular. Depois de alguns ciclos de divisão celular, o embrião na fase de blastocisto foi transplantado para o útero de uma ovelha incubadora também da raça “Scottish Blackface”. A ovelha que nasceu era branca e geneticamente idêntica à ovelha “Finn Dorset”, que foi a doadora do núcleo.

Então, uma vez demonstrado que, nas células diferenciadas, o genoma permanece constante, tornou-se necessário buscar novos caminhos para explicar a diferenciação celular, principalmente nos primeiros estágios do desenvolvimento embrionário.

2. Determinantes citoplasmáticos e diferenciação celular

Os ovócitos de anuros são extremamente grandes e transparentes, possuindo citoplasmas facilmente visualizados em microscopia ótica. A análise desses citoplasmas mostrou que eles apresentam regiões bastante heterogêneas, levando-se a postular que os seus componentes se apresentam distribuídos em diferentes concentrações no citosol. Posteriormente, essa assimetria foi identificada em células-ovo de várias espécies e foi demonstrado que essa característica é o ponto de partida para a definição dos três eixos corporais do indivíduo: dorso-ventral, ântero-posterior e esquerda e direita.

Esses componentes foram denominados de determinantes citoplasmáticos. Atualmente sabemos que se trata de fatores de transcrição e serão detalhados no tópico posterior.

Como foi dito no Capítulo 10, as primeiras divisões do ovo compreendem apenas a replicação do DNA, não havendo novas sínteses de proteínas durante a interfase, sendo esse processo de divisão denominado de clivagem. Portanto, o conteúdo do citosol das células-filhas formadas, como, por exemplo, as proteínas e mRNAs, são oriundos da célula-ovo (Figura 75). Portanto, entre as proteínas se encontram também os fatores de transcrição que serão distribuídos de forma desigual entre as células-filhas.

Uma vez que o citosol da célula-ovo apresenta diferença em sua constituição de acordo com a região citoplasmática, podemos supor que esse conteúdo é distribuído de forma desigual entre as células-filhas. Essa divisão assimétrica continua até a formação da blástula ou blastocisto, que é caracterizado pelo aparecimento de uma pequena cavidade circundada por um epitélio e, no interior dessa cavidade, se encontra uma massa celular (blastômeros) que irá formar o embrião.

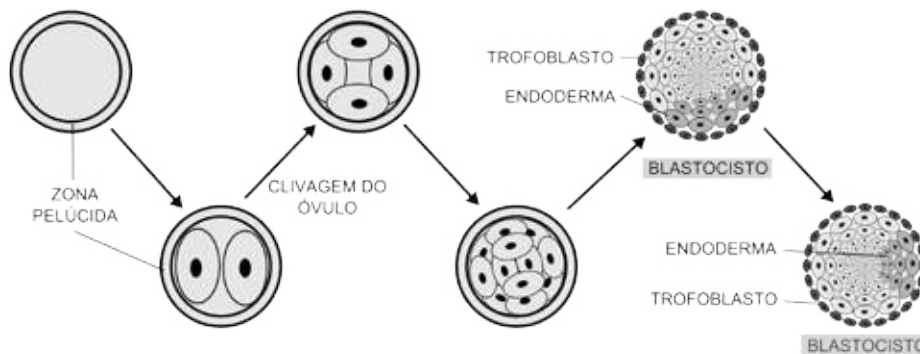


Figura 75 – Evolução do desenvolvimento embrionário de um mamífero a partir da célula-ovo até a formação do blastocisto.

3. Fatores de transcrição

Fatores de transcrição são proteínas que se ligam ao DNA de células eucarióticas para permitir que haja uma ligação entre a enzima RNA-polimerase e o DNA, possibilitando, assim, a transcrição deste na forma de RNA e em se tratando de um mRNA, a posterior tradução. Um diferente conjunto de fatores de transcrição levará as células a uma expressão diferenciada dos seus genes e, dessa forma, as células-filhas iniciarão seus processos de diferenciação.

Portanto, diferenciação celular consiste apenas na expressão diferenciada dos genes. Todas as células possuem o mesmo genoma; no entanto, a presença de fatores de transcrições diferentes modifica a regulação da transcrição dos genes, o que leva a um perfil proteico específico para cada tipo de célula (Figura 12.2).

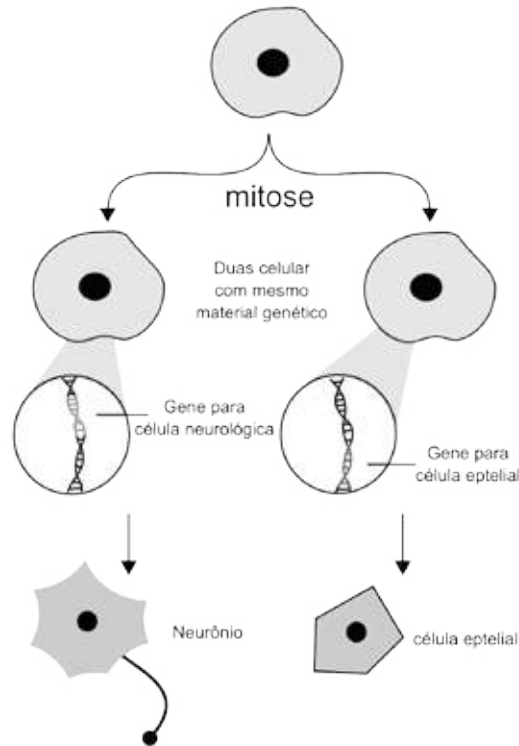


Figura 76 – Exemplo a expressão diferenciada dos genes em neurônios e células epiteliais.

4. Determinação

A determinação de diferentes tipos de células envolve progressivas restrições nas suas potencialidades de desenvolvimento. Quando uma célula “escolhe” um certo destino, ela é dita ser determinada, embora ainda muitas mudanças irão ocorrer para que ela se torne especializada. Determinação implica uma mudança estável, ou seja, o destino de células determinadas não muda. Diferenciação segue determinação, quando a célula já elaborou um programa de desenvolvimento específico. Diferenciação resulta em tipos de células que têm identidades mais definidas, tais como as células epiteliais, células nervosas, adiposas, hepatócitos etc.

É importante lembrar que determinados tipos de genes se expressam de forma comum em todas as células diferenciadas. Esses genes são denominados de genes de manutenção; são aqueles necessários para formação dos constituintes básicos das células, como a formação dos ribossomos, mitocôndrias etc. Os genes que tornam as células diferenciadas são aqueles que se expressam de forma específica em determinado tipo de célula, como a produção de anticorpos pelos linfócitos, a síntese de hemoglobina pelos eritrócitos, a formação dos neurofilamentos nos neurônios etc. Esses genes são denominados de “genes de função de luxo”.

As primeiras diferenciações induzidas pelos fatores citoplasmáticos não são suficientes para a formação de novos tipos de células, devendo agora o processo de especialização ser estabelecido através de contatos entre as células para que haja um processo de indução entre elas. O processo de gastrulação se inicia em uma parte do blastocisto denominada de blastóporo. A gastrulação levará ao aparecimento dos primeiros tecidos: endoderma, mesoderma e ectoderma. Foi observado que a retirada de blastômeros destinados a formar o ectoderma em *Xenopus* impossibilitava naquela região a formação do mesoderma, indicando que o ectoderma induz a formação do mesoderma.

5. Indução e morfógenos

A indução, através da produção de proteínas que irão ativar o processo de diferenciação de outras células, começa bem cedo no desenvolvimento do organismo. O processo de indução é fundamental também nas etapas posteriores de diferenciação. Durante o estágio embrionário de mórula, que precede a formação do blastocisto, já se pode perceber que as células mais externas estão firmemente ligadas pelas adesões oclusivas e que elas já se comunicam pela formação das estruturas em fenda.

Portanto, alguns genes ativados em umas células podem codificar proteínas que lentamente se difundem através do embrião em desenvolvimento. Baixas, médias e altas concentrações desses produtos químicos são encontradas em diferentes áreas do embrião, dependendo da distância da célula que produziu essa substância química. As células respondem às concentrações dessas substâncias ligando ou desligando genes particulares. Assim, a posição ou localização de uma célula do embrião precoce, em grande parte, determina o tipo de célula que ela se tornará no final do processo do desenvolvimento embrionário.

Essas substâncias indutoras que ativam os genes de acordo com a concentração que chega à célula são denominadas de morfógenos.

Portanto, produtos químicos difusíveis sintetizados por uma célula embrionária induzem diferenciação das outras células, permitindo que estas produzam as proteínas para as mudanças necessárias para suas especializações. Por exemplo, o desenvolvimento da retina induz o desenvolvimento do cristalino e da córnea do olho. A substância secretada pela retina em desenvolvimento só pode difundir-se a uma curta distância e afeta as células vizinhas, que se tornam outras partes que compõem o olho.

Durante o desenvolvimento embrionário, algumas células migram. Por exemplo, as células da crista neural migram ao longo de todo o embrião e, dependendo da sua nova "vizinhança", se diferenciarão em células de pigmento, as células da medula suprarrenal etc.

6. Células-tronco

Você já deve ter visto de forma exaustiva nos meios de comunicação falando sobre as células-tronco. Elas devem esse nome ao fato de que, embora já tenham sofrido um processo de diferenciação, ainda são capazes de formar várias células diferentes (Figura 77). Assim, similar ao tronco de uma árvore que pode ramificar-se dando origem a vários galhos, elas podem seguir vários caminhos de diferenciação distintos, dando origem a uma variedade de células de um mesmo tecido ou de tecidos diferentes.

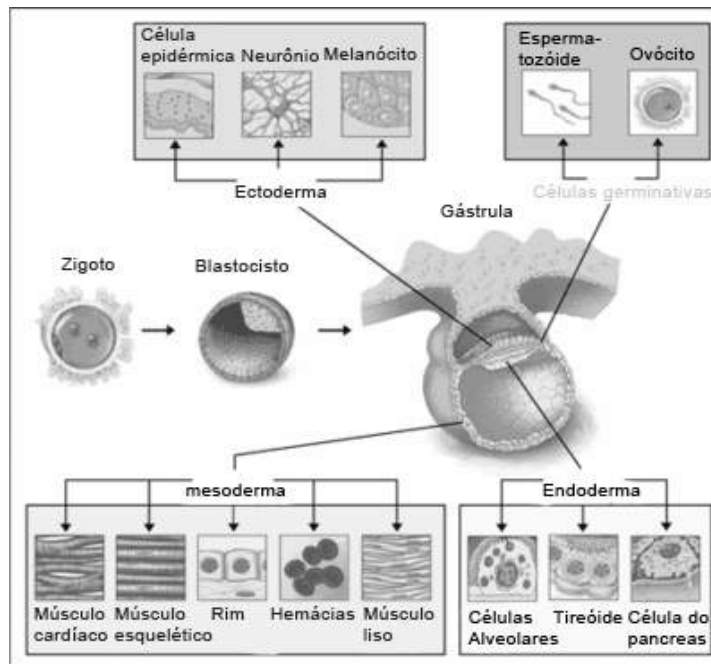


Figura 77 – Células-tronco embrionárias e a sua potencialidade de se tornar qualquer tipo de célula.

De acordo com a capacidade de formar novas células, as células-tronco podem ser divididas em: totipotentes, pluripotentes e multipotentes (Figura 78).

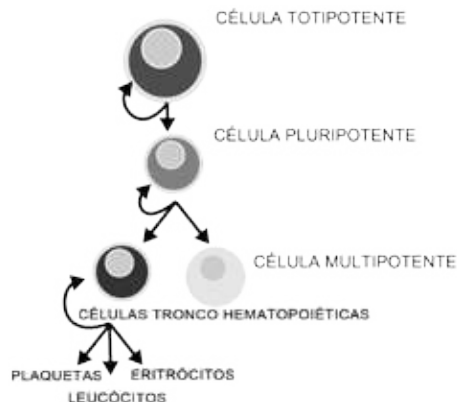


Figura 78 – Distinção entre células totipotentes, puripotentes e multipotentes.

Totipotentes: a célula-ovo ou zigoto tem potencial para se transformar em qualquer tipo de célula, sendo, por isso, denominada de totipotente. Na realidade, até o estágio de 8 células, ou seja, até a segunda divisão do ovo, todas as células resultantes são consideradas totipotentes. A partir desse estágio, as células já sofreram uma pequena diferenciação, que irá demarcar o curso da sua especialização e, portanto, não são mais denominadas de totipotentes.

Pluripotentes: são células que, embora não possam mais formar todas as células de um organismo, ainda possuem uma potencialidade de formar uma grande variedade de tecidos. Como exemplo, podemos citar as células encontradas no cordão umbilical. Os blastômeros, embora sejam capazes de formar qualquer tipo de célula, atualmente não são mais consideradas totipotentes, e sim, pluripotentes. Essa nova denominação, embora controversa, deve-se ao fato de que nesse estágio já ocorreu uma determinação de que as células do trofoblasto irão formar a placenta, e os blastômeros irão formar o embrião. Portanto, os blastômeros já não possuem a potencialidade 100% das células totipotentes.

Multipotentes: nesse caso as células tronco já estão em um estágio mais avançado de diferenciação e estão determinadas a formar células de apenas um tipo de tecido. O exemplo mais conhecido desse tipo de célula são as células da medula óssea, que irão formar o tecido hematopoiético ou tecido sanguíneo. Mas cada dia é descoberta uma nova linhagem de células-tronco, como as células mesenquimais que originam o tecido conjuntivo, cartilaginoso, ósseo e o tecido adiposo. Outros exemplos são

- células-tronco epiteliais (intestino e pele);
- células-tronco germinativas (dos testículos no macho adulto e no ovário embrionário).

As células-tronco ganharam destaque na mídia, não somente pelos grandes feitos obtidos em pesquisa, mas pela polêmica em torno de sua utilização.

Atualmente, as células multipotentes podem ser desviadas para formar outros tecidos além daqueles aos quais elas já estão destinadas. Com os recursos laboratoriais, como o uso de fatores de crescimento, é possível se obter células de vários tecidos usando as células-tronco da medula óssea, por exemplo. No entanto, esses são processos bastante dispendiosos e com um rendimento inadequado para a demanda na sua utilização. Baseados nisso, os cientistas têm lutado para utilizar células embrionárias, devido à sua potencialidade irrestrita de formar qualquer tipo de célula. No entanto, a ciência mais uma vez tem esbarrado com os dogmas religiosos e culturais, que não aceitam esse tipo de pesquisa.

Em 29 de maio de 2008, os ministros do Supremo Tribunal Federal (STF), após extensa discussão com geneticistas e neurocientistas brasileiros renomados, decidiram pela liberação do uso de células-tronco embrionárias

em pesquisas científicas. As células-tronco embrionárias são as únicas capazes de dar origem as 216 tipos de células que compõem o organismo humano, o que pode significar no futuro a cura de doenças como diabetes e mal de Parkinson, além de possibilitar a recuperação dos movimentos dos para e das tetraplégicos e recuperar tecidos cardíacos infartados. Logo após a decisão judicial, pesquisadores brasileiros conseguiram produzir a primeira linhagem de células-tronco feitas no Brasil. Mas grandes potências econômicas, como os Estados Unidos, onde as pesquisas de uma forma geral são bastante avançadas, não permitem esse tipo de estudo.

Para refletir

Promova um debate com seus colegas sobre a utilização das células-tronco embrionárias. Faça uma divisão entre aqueles que são contra e aqueles que são a favor. Cada corrente deverá expor seus motivos, do ponto de vista cultural, religioso e científico.

7. Apoptose

Quando falamos no ciclo celular (Capítulo 10), dizemos que o ciclo começa com a interfase, em que todo material celular é duplicado, continua-se com a mitose até chegar novamente na interfase. Entretanto, a capacidade das células de se dividirem é limitada e chega um momento em que ela sai do circuito de divisão, se destaca das outras células e morre. Essa morte celular programada recebe o nome de apoptose.

O termo apoptose vem do grego *apop*, que significa se destacar, *ptosis* o ato de cair, em alusão às folhas que morrem no outono e abandonam a árvore.

A apoptose é, portanto, um processo natural e saudável, diferente da necrose, em que a célula morre devido a um estresse mecânico, oxidativo ou biótico (devido à infecção por algum microrganismo).

Portanto, estudaremos a importância da apoptose nos processos fisiológicos de desenvolvimento e os mecanismos bioquímicos que levam uma célula a ser destruída sem causar danos às células vizinhas.

7.1. Diferenças entre apoptose e necrose

A apoptose é um processo fisiológico normal, dirigida por genes com o intuito de remover células danificadas, envelhecidas ou desnecessárias, enquanto a necrose é o resultado de um processo externo (mecânico ou biótico) sem nenhum controle por parte do organismo.

No caso da apoptose, somente a célula desnecessária ao organismo será induzida a morrer sem provocar danos nas células vizinhas. No caso da necrose, a extensão dos danos varia bastante, podendo provocar lesões em todo um tecido, ou mesmo órgão.

As células apoptóticas são fagocitadas pelos macrófagos vizinhos após a emissão de vesículas apoptóticas, sem que haja extravasamento de substâncias nem recrutamento de leucócitos. O tecido necrosado é fagocitado no início por macrófagos vizinhos que liberaram citocinas, provocando o recrutamento de novos macrófagos e leucócitos provocando, então, uma resposta inflamatória de grau variável e mais tardiamente uma resposta imunológica.

7.2. Funções da apoptose

Como já foi comentado anteriormente, a principal função da apoptose é a remoção de células desnecessárias ao organismo, ou seja, células envelhecidas, ou células que podem causar danos, como aquelas infectadas por vírus ou células transformadas (cancerígenas).

Uma importante função da apoptose é a remodelação dos tecidos, ou seja, a retirada de partes do tecido para que haja a correta formação dos órgãos (Figura 79). Um caso clássico que você já deve ter observado bastante na natureza é a evolução do girino até o sapo adulto. Você já deve ter visto, em águas paradas, que os girinos possuem uma cauda, mas, à medida que ele cresce, a cauda diminui através da apoptose das células que a compõem.

Outro fato que você já deve ter tomado conhecimento através de imagens de ultrassonografia é a presença de pele entre os dedos do feto humano, dando um aspecto de remo às mãozinhas desse ser em formação. Pois bem, esse excesso de pele também é removido através da apoptose das células que o compõem. Mesmo nos primórdios da formação do embrião, muitos tecidos são formados em excesso, como, por exemplo, o número de neurônios. Estes neurônios a mais também sofrerão apoptose.

Mesmo durante a fase adulta do indivíduo, o processo apoptótico na remodelação dos tecidos continua a ter sua importância. Quando, mensalmente, o útero da mulher se prepara para recepção do embrião, as células do endométrio se desenvolvem para que haja a nidadação, ou seja a implantação do embrião. Não havendo fecundação, essas células, agora desnecessárias, são eliminadas por apoptose. Quando ocorre gestação, os seios produzem novas glândulas mamárias para alimentar o futuro bebê. No entanto, após a lactação, essas glândulas também sofrerão apoptose.

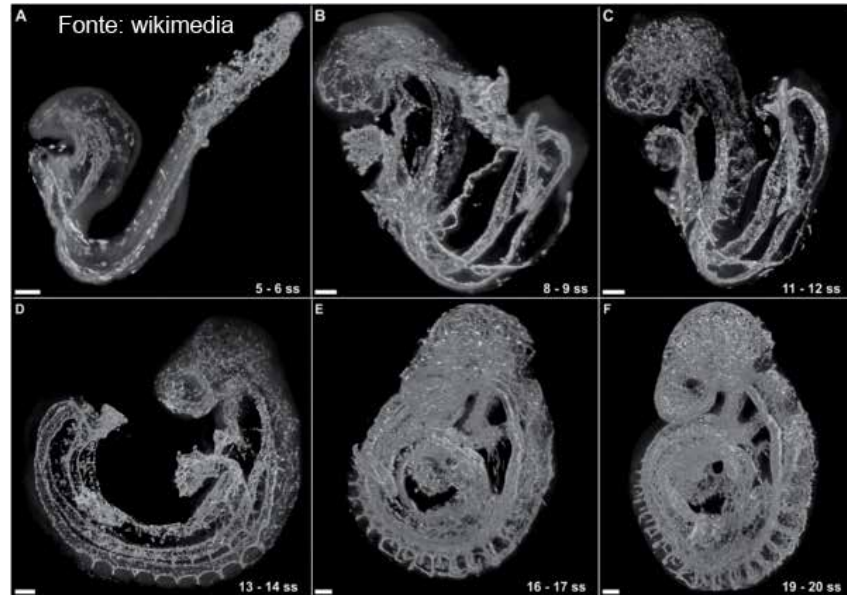


Figura 79 – Remodelação de tecidos através da apoptose em um feto de cavalo marinho.

O citoplasma começa a sofrer um processo de encolhimento devido ao desmoronamento do citoesqueleto, como a clivagem das lâminas e dos filamentos de actina. O núcleo se torna condensado e, em seguida, a cromatina e proteínas estruturais do núcleo começam a ser quebradas, e em muitos casos o núcleo de células apoptóticas tem uma aparência de ferradura.

As células sofrem modificações na composição da sua membrana plasmática, desencadeando uma resposta nos macrófagos próximos à célula apoptótica. Uma dessas mudanças consiste na translocação dos lipídios fosfatidilserina da monocamada interna da membrana plasmática para a monocamada externa. A membrana começa a apresentar bolhas seguidas pela formação de vesículas apoptóticas, que são prontamente fagocitadas pelos macrófagos (Figura 80).

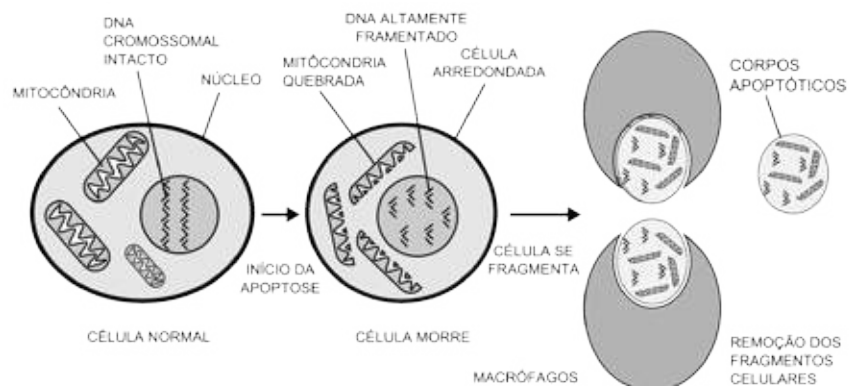


Figura 80 – Visão geral da apoptose.

7.3. Caspases

C significa cisteína, asp se refere ao aminoácido aspartato, que é o alvo de ligação da enzima, e-ase é o sufixo comum a todas as enzimas. Portanto, Caspases são proteases cisteínicas responsáveis pelo processo de degradação das células apoptóticas. Elas existem normalmente nas células em estado inativo na forma de um polipeptídeo único, de acordo com a Figura 81.

Após ativação, a porção reguladora e a porção ligante do polipeptídeo são eliminadas, dando origem às duas subunidades: a p20 e a p40 (o número indica a massa molecular em kDa dos polipeptídeos formados). Duas de cada subunidade se ligam para formar o tetrâmero ativado (p20)₂(p40)₂.

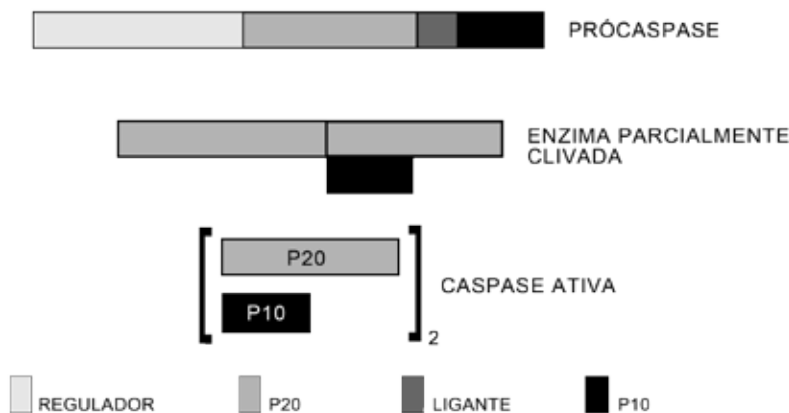


Figura 81 – Formação de uma caspase ativa a partir do polipeptídeo pró-caspase.

As caspases são divididas em dois tipos de acordo com a sua função. Dessa forma temos as caspases iniciadoras, que são ativadas pelo complexo ligante ou por fatores resultantes deste, e as executoras, que vão realizar o processo de degradação celular. As caspases executoras são ativadas pelas caspases iniciadoras.

Existem mais de 16 caspases conhecidas, sendo que é necessária a ação de apenas algumas delas para que haja a degradação celular.

Essas proteínas clivam substratos-chaves da célula que são requeridos para o funcionamento normal, incluindo proteínas estruturais do citoesqueleto e proteínas nucleares, tais como as enzimas de reparo do DNA. As caspases podem ativar outras enzimas degradativas, tais como Dnases, as quais comecem a clivar o DNA do núcleo. O resultado dessas mudanças bioquímicas é o aparecimento de mudanças morfológicas observadas nas células apoptóticas.

7.4. Outras proteínas associadas à apoptose

A proteína Bcl-2 se associa às membranas do retículo endoplasmático, ao envelope nuclear e membrana mitocondrial externa. Ela é apenas uma representante de uma grande família de proteínas, cujos membros pos-

suem pelo menos um dos quatro domínios conservados, conhecidos como Domínios de Homologia à Bcl-2 (BH1, BH2, BH3, BH4). Funcionalmente, os membros dessa família dividem-se em dois grupos. O grupo antiapoptótico contém pelo menos os domínios BH1 e BH2; já o grupo pró-apoptótico possui apenas o domínio BH3.

A fosfoproteína nuclear c-MYC é um fator de transcrição que induz a apoptose através de um mecanismo de controle transcricional, modulando genes alvos apropriados, em resposta à deprivação de fatores de sobrevivência (nutrientes, fatores de crescimento etc).

A proteína P53 está envolvida na resposta celular, verificando os danos do DNA e preservando a integridade genômica. A interação da proteína P53 com o DNA ocorre devido a ela funcionar como um fator de transcrição de outras proteínas que regulam a síntese e o reparo do DNA. Se o dano do DNA é irreparável, o aumento do nível de atividade de P53 promove a auto-destruição celular (mecanismo de defesa).

7.5. Receptores da morte

Receptores da morte são proteínas transmembranares que transmitem sinais apoptóticos através de ligantes específicos. Eles desempenham um papel importante na apoptose e pode ativar uma cascata de caspases dentro de segundos após o acoplamento do ligante. A indução de apoptose através desse mecanismo é muito rápida. Receptores da morte pertencem à superfamília de genes do fator da necrose tumoral (TNF) e podem ter várias outras funções, além de dar início à apoptose. Os receptores da morte mais bem caracterizados são CD95 (ou Fas), TNFR1 (TNF receptor-1) e o TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand).

7.6. Mecanismos de ativação da apoptose

Os mecanismos moleculares de ativação da apoptose são bastante intrincados e complexos, havendo ainda muito a ser desvendado. Nas células do sistema imunológico, foram identificadas substâncias indutoras como o fator da necrose tumoral (TNF) que se liga ao receptor TNFR1 e outra proteína FasL (Fas ligante), que, como o próprio nome indica, se liga ao receptor Fas.

É interessante notar que a sinalização que leva a apoptose pela proteína TNF é do tipo parácrina, ou seja, o TNF é liberado por células vizinhas aquela que irá sofrer apoptose, enquanto que o ligante FasL trata-se de uma proteína transmembranar, e o contato é feito célula a célula. Após a ligação dessas proteínas com os seus respectivos receptores, no interior da célula, começa a formação de um grande complexo em torno da parte interna do receptor, que possui atividade tirosina quinase.

Assim, no caso do receptor TNFR1, a primeira proteína a interagir é a TRADD (TNF receptor-associated death domain) seguida pela proteína TRAF (TNF receptor associated factor). No caso do receptor Fas a primeira proteína a se associar é a FADD (Fas receptor associated death domain). A atividade tirosina quinase dos receptores irão ativar essas proteínas, que, por sua vez, irão ativar as caspases iniciadoras (Figura 82).

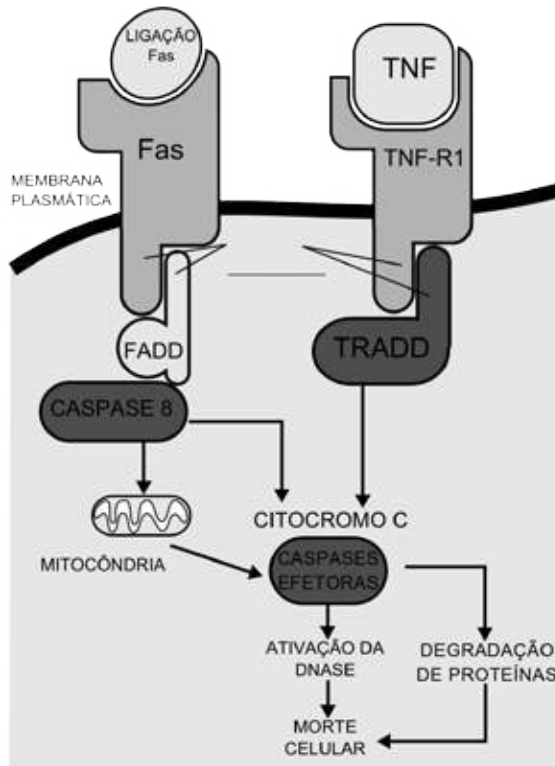


Figura 82 – Principais mecanismos que desencadeiam a apoptose.

Um outro mecanismo de apoptose é mediado pela mitocôndria. Devido a essa organela ser uma fonte contínua de formação de espécies reativas de oxigênio, como o íon superóxido, essas espécies podem danificar as membranas mitocondriais, provocando a liberação de Ca^{2+} , que ativa algumas enzimas hidrolíticas e levam à liberação do transportador de elétrons, o citocromo C. O citocromo C liberado migra da mitocôndria para o citoplasma onde se liga e ativa uma proteína adaptadora denominada de Apaf1. Esse complexo ativa a caspase 9 (iniciadora), a qual, então, ativa a caspase 3, que começa a executar a apoptose (Figura 82).

Além do estresse oxidativo várias outras formas de apoptose fazem uso da via mitocondrial, como por exemplo, a apoptose mediada pela proteína P53.

Síntese do Capítulo



Todas as células de um indivíduo são originárias de uma única célula, a célula-ovo. Portanto, todas são portadoras de um mesmo genoma. Na embriogênese, as células começam a se diferenciar e a se especializarem. A diferenciação celular consiste na expressão diferenciada dos genes. Dessa forma, as células vão acumulando conjuntos individuais de proteínas e vão adquirindo forma e funções próprias.

De acordo com a capacidade de diferenciação, as células podem ser divididas em totipotentes, pluripotentes e multipotentes. Totipotente é aquela capaz de se diferenciar em qualquer tipo de célula, pluripotentes já sofreram um certo grau de diferenciação e, portanto, são restritas a formarem apenas alguns tipos de célula. Nas multipotentes, essa restrição é ainda maior.

As células não se dividem indefinidamente. Em um determinado momento, elas se desprendem dos tecidos e morrem. A morte celular programada é denominada de apoptose (*apop* = se destacar; *ptosis* = cair). A apoptose tem várias funções importantes dentro da célula, como a remodelação dos tecidos e a eliminação de células transformadas ou infectadas por vírus.

As células são induzidas a entrarem em apoptose por sinais que se ligam aos receptores da morte. Esses receptores vão levar à ativação de enzimas hidrolíticas, denominadas caspases. Essas enzimas são responsáveis pela degradação celular, levando à formação dos corpos apoptóticos. Os corpos apoptóticos são então fagocitados pelos macrófagos do tecido, não havendo, portanto processo inflamatório.

Atividades de avaliação



1. Defina determinação, especialização e diferenciação.
2. Diferencie as células troncos totipotentes, pluripotentes e multipotentes.
3. Qual a importância da apoptose na formação de um organismo?
4. O que são caspases?
5. Diferencie apoptose de necrose.

Referências



ALBERTS, B. et al., **Fundamentos da Biologia Celular**. 2ª edição, Porto Alegre: Editora Artmed. 2006.

DE ROBERTIS, E. M. F., HIB, J., **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. e COX, M. M., **Princípios de Bioquímica**, 3ª edição, São Paulo: Sarvier editora de livros médicos, 2005.

Molecular Biology Web Book. Dispon[ível em: www.web-books.com/MoBio/Free/Chap6.htm - 7k. Acessado em: 20/11/2008 às 20:23 h.

Apoptose: quando a célula programa a própria morte. Em: **Ciência Hoje**, vol.25, nº 150, jun.1999. Maria de Fátima Horta, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais. John Ding-E Young, Universidade de Rockefeller, Nova York, Estados Unidos. Disponível em: <http://www.miniweb.com.br/ciencias/artigos/Apoptose.html>. Acessado em 25/01/2009 às 14:35 h.

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/A/Apoptosis.html>

http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DB_Ch09/DBNDiff.html

Sobre a autora

Maria Erivalda Farias de Aragão: é graduada em Farmácia pela Universidade Federal do Ceará. Possui Mestrado em Bioquímica também pela Universidade Federal do Ceará e Doutorado em Biologia Florestal pela Universidade de Henri Poincaré (Nancy, França). É professora adjunta da Universidade Estadual do Ceará.



A não ser que indicado ao contrário a obra **Biologia Celular**, disponível em: <http://educapes.capes.gov.br>, está licenciada com uma licença **Creative Commons Atribuição-Compartilha Igual 4.0 Internacional (CC BY-SA 4.0)**. Mais informações em: http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.pt_BR. Qualquer parte ou a totalidade do conteúdo desta publicação pode ser reproduzida ou compartilhada. Obra sem fins lucrativos e com distribuição gratuita. O conteúdo do livro publicado é de inteira responsabilidade de seus autores, não representando a posição oficial da EdUECE.



Ciências Biológicas

Fiel a sua missão de interiorizar o ensino superior no estado Ceará, a UECE, como uma instituição que participa do Sistema Universidade Aberta do Brasil, vem ampliando a oferta de cursos de graduação e pós-graduação na modalidade de educação a distância, e gerando experiências e possibilidades inovadoras com uso das novas plataformas tecnológicas decorrentes da popularização da internet, funcionamento do cinturão digital e massificação dos computadores pessoais.

Comprometida com a formação de professores em todos os níveis e a qualificação dos servidores públicos para bem servir ao Estado, os cursos da UAB/UECE atendem aos padrões de qualidade estabelecidos pelos normativos legais do Governo Federal e se articulam com as demandas de desenvolvimento das regiões do Ceará.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ

