

Biologia Celular



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

BIOLOGIA
licenciatura a distância

Biologia Celular

Zenilda Laurita Bouzon

Rogério Gargioni

Luciane Cristina Ouriques



UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL

Ministério
da Educação



2ª edição
Florianópolis, 2010.

Governo Federal

Presidente da República Luiz Inácio Lula da Silva

Ministro de Educação Fernando Haddad

Secretário de Ensino a Distância Carlos Eduardo Bielschowsky

Coordenador Nacional da Universidade Aberta do Brasil Celso Costa

Universidade Federal de Santa Catarina

Reitor Alvaro Toubes Prata

Vice-Reitor Carlos Alberto Justo da Silva

Secretário de Educação à Distância Cícero Barbosa

Pró-Reitora de Ensino de Graduação Yara Maria Rauh Müller

Pró-Reitora de Pesquisa e Extensão Débora Peres Menezes

Pró-Reitora de Pós-Graduação Maria Lúcia Camargo

Pró-Reitor de Desenvolvimento Humano e Social Luiz Henrique Vieira da Silva

Pró-Reitor de Infra-Estrutura João Batista Furtuoso

Pró-Reitor de Assuntos Estudantis Cláudio José Amante

Centro de Ciências da Educação Wilson Schmidt

Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Modalidade a Distância

Diretora Unidade de Ensino Sonia Gonçalves Carobrez

Coordenadora de Curso Maria Márcia Imenes Ishida

Coordenadora de Tutoria Zenilda Laurita Bouzon

Coordenação Pedagógica LANTEC/CED

Coordenação de Ambiente Virtual Alice Cybis Pereira

Comissão Editorial Viviane Mara Woehl, Alexandre Verzani Nogueira, Milton Muniz

Projeto Gráfico Material impresso e on-line

Coordenação Prof. Haenz Gutierrez Quintana

Equipe Henrique Eduardo Carneiro da Cunha, Juliana Chuan Lu, Laís Barbosa, Ricardo Goulart Tredezini Straiato

Equipe de Desenvolvimento de Materiais

Laboratório de Novas Tecnologias - LANTEC/CED

Coordenação Geral Andrea Lapa

Coordenação Pedagógica Roseli Zen Cerny

Material Impresso e Hipermedia

Coordenação Thiago Rocha Oliveira

Adaptação do Projeto Gráfico Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira

Diagramação Thiago Felipe Victorino, Jessé A. Torres, Karina Silveira, Gabriela Dal Toé Fortuna, Laura Martins Rodrigues, Rafael Queiroz de Oliveira

Ilustrações Lissa Capeleto, Robson Felipe Parucci dos Santos, Thiago Felipe Victorino, Jessé A. Torres, Karina Silveira, Gabriela Dal Toé Fortuna, Rafael Queiroz de Oliveira, Laura Martins Rodrigues, Bruno Nucci

Tratamento de Imagem Steven Nicolás Franz Peña, Thiago Rocha Oliveira

Revisão gramatical Christiane Maria Nunes de Sousa

Design Instrucional

Coordenação Vanessa Gonzaga Nunes

Design Instrucional Ana Paula Müller de Andrade

Copyright © 2010 Universidade Federal de Santa Catarina. Biologia/EaD/UFSC
Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada sem a prévia autorização, por escrito, da Universidade Federal de Santa Catarina.

B752b Bouzon, Zenilda Laurita

Biologia celular / Zenilda Laurita Bouzon, Rogério Gargioni, Luciane Ouriques. — 2. ed. — Florianópolis : BIOLOGIA/EAD/UFSC, 2010.
238p.

ISBN 978-85-61485-34-4

1. Célula. 2. Organela. 3. Morfuncional. I. Gargioni, Rogério.
II. Ouriques, Luciane. III. Título.

CDU 576.3

Elaborado por Rodrigo de Sales, supervisionado pelo Setor Técnico da Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina

Sumário

Apresentação.....	9
--------------------------	----------

1. Introdução ao Estudo das Células	13
--	-----------

1.1 Introdução	15
1.2 Origem e evolução das células	17
1.3 Classificação dos seres vivos	20
1.4 Vírus - Parasitas celulares obrigatórios	20
1.5 Rickétsias e Clamídias	21
1.6 Características gerais das células	22
1.7 Organização geral das células procariontes	23
1.8 Estrutura celular das bactérias	25
1.9 Micoplasmas	27
1.10 Cianobactérias	28
1.11 Organização geral das células eucariontes	29
1.12 Características que distinguem as células vegetais das células animais	34

2. Membrana Plasmática	41
-------------------------------------	-----------

2.1 Introdução	43
2.2 Estrutura da membrana plasmática	43
2.3 Proteínas de membrana	45
2.4 Mobilidade das proteínas de membrana	47
2.5 Lipídios de membrana	48
2.6 Hidratos de carbono de membrana	51
2.7 Colesterol de membrana	52
2.8 Arquitetura molecular de membrana	52
2.9 Especializações de membrana	54
2.10 Transporte de solutos através da membrana	64

3. Sistemas de Endomembranas	75
3.1 Retículo endoplasmático (RE)	77
3.2 Complexo de Golgi	82
3.3 Lisossomos	85
4. Bioenergética e Metabolismo.....	93
4.1 Introdução	95
4.2 Mitocôndrias.....	95
4.3 Peroxissomos	107
5. Citoesqueleto	113
5.1 Introdução	115
5.2 Estrutura e organização dos filamentos de actina	116
5.3 Interação actina-miosina e movimento celular	117
5.4 Microtúbulos	118
5.5 Filamentos intermediários	122
6. Célula – Matriz Extracelular	125
7. Núcleo	133
7.1 Introdução	135
7.2 Envelope nuclear	136
7.3 Transporte seletivo de proteínas do núcleo para o citoplasma e deste para o núcleo	140
7.4 Lâmina nuclear	141
7.5 Cromatina	143
7.6 Cromossomo: o estado mais condensado da cromatina	149
7.7 Nucléolo	152
7.8 Transcrição e processamento do RNA	156
7.9 Montagem das subunidades dos ribossomos	157
7.10 Nucleoplasma	158
7.11 O núcleo durante a mitose.....	159
7.12 Ciclo celular e mitose	159
7.13 O ciclo celular dos eucariotos.....	160
7.14 Fases do ciclo celular	161
7.15 Regulação do ciclo celular pelo crescimento celular e sinais extracelulares	163

7.16 Fases da mitose	170
7.17 Meiose	173
8. Diferenciação Celular.....	187
8.1 Introdução.....	189
8.2 Diferenciação e potencialidade	190
8.3 Diferenciação e gástrula	190
8.4 A diferenciação e expressões gênicas	193
8.5 Diferenciação, ativação e inativação gênica	193
8.6 Controle da diferenciação celular	194
8.7 Diferenciação de embriões e de organismos adultos.....	195
8.8 Diferenciação e células tronco	195
8.9 Diferenciação e câncer	196
9. Apoptose.....	201
10. Célula Vegetal.....	213
10.1 Introdução.....	215
10.2 Parede Celular	216
10.3 Vacúolo	224
10.4 Plastídeos	225
Referências Bibliográficas	237
Bibliografia Complementar	238

Apresentação

Microscopista inglês que, aos 27 anos de idade, foi premiado com o cargo de curador da Royal Society, a principal academia científica inglesa.

O acúmulo de conhecimentos que atualmente possuímos a respeito da célula como a unidade fundamental dos seres vivos iniciou com a invenção do primeiro microscópio óptico em 1590, pelos irmãos holandeses Francis e Zacharias Jansen. Em 1655, **Robert Hook** usou um microscópio primitivo para examinar uma peça de cortiça, verificando que esta era composta de pequenas cavidades semelhantes a uma cela, daí o nome “célula”.

Por dois séculos, o microscópio óptico permaneceu como um instrumento disponível apenas para alguns indivíduos da elite. Somente no século XIX foi que o microscópio começou a ser usado em escala mais ampla para a observação de células vivas.

A difusão da importância da célula não aconteceu antes de 1830. Só a partir da publicação dos trabalhos do botânico Mathias Schleiden, (1838) e do zoólogo Theodor Schwann, (1839), os quais realizaram uma investigação sistemática de tecidos de plantas e animais com o microscópio óptico, os dois investigadores mostraram que a célula era a unidade fundamental de todos os seres vivos. Com a publicação desses trabalhos, surgiu oficialmente a biologia celular. Esses dois trabalhos somados a outros que foram realizados por microscopistas no século XIX levaram à conclusão de que todas as células vivas são formadas pela divisão de células pré-existentes - doutrina frequentemente chamada de Teoria Celular.

Nas últimas décadas, os avanços no entendimento da biologia celular foram revolucionários e estão entre as grandes conquistas do homem. Os conhecimentos sobre as células só progrediram à medida que as técnicas de investigação se aperfeiçoaram. O estudo da célula começou com o microscópio óptico, que, já em 1896, atingia grande eficiência graças às primeiras objetivas de grande resolução. O emprego desse aparelho em combinação com a descoberta de técnicas de microtomia e coloração permitiu o estudo morfológico das células com grandes detalhes.

O microscópio óptico tem evoluído, com o microscópio de contraste de fase, de fluorescência, confocal e também os sistemas de captura e processamentos de imagens. Outro passo importante foi a utilização e o aperfeiçoamento de técnicas citoquímicas que levaram o conhecimento da composição química de

muitos componentes celulares que só eram estudados do ponto de vista morfológico. Outro método de investigação como o isolamento de organelas por centrifugação fracionada foi possível estudar, a composição química como também as funções das organelas.

O emprego do microscópio eletrônico representou um enorme impulso para o conhecimento da morfologia das células. A influência foi tão grande que foi necessário uma revisão dos conceitos morfológicos dos componentes celulares. Hoje o conhecimento que nós temos com relação a forma e a estrutura das organelas das células é graças ao microscópio eletrônico.

Além dos já mencionados, novos avanços foram alcançados, principalmente, no entendimento de muitos aspectos da Biologia Celular, como o trânsito e as rotas de importação destas proteínas para o retículo endoplasmático, o transporte para o complexo de Golgi, e os novos conhecimentos referentes à organização e ao funcionamento nuclear, entre muitos outros.

Esses novos conhecimentos vieram acompanhados de alguns benefícios práticos, como a engenharia genética aplicada à produção de alimentos, testes genéticos para a determinação de doenças, o uso do DNA em medicina forense, o uso de células tronco (stem cells) no tratamento de doenças degenerativas como o mal de Parkinson, e o balanço dos riscos ambientais versus benefícios. Estes benefícios deverão nortear a humanidade e, para que possamos utilizar todo esse conhecimento científico hoje e no futuro, necessitamos adquirir conhecimentos de Biologia Celular.

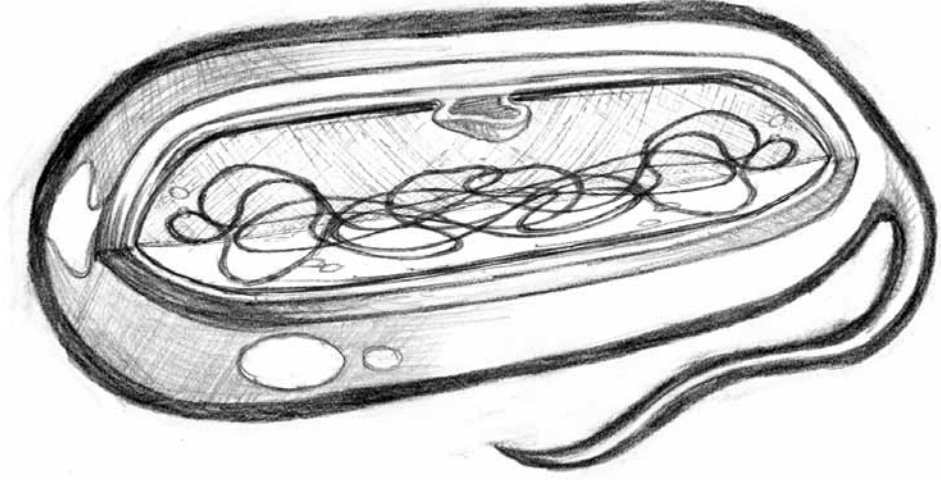
Nossa finalidade ao escrevermos este livro foi levar até você um conhecimento mais aprofundado sobre as células vivas. Esse conhecimento é uma ferramenta que será utilizada como um facilitador do entendimento desse assunto por alunos de diversos cursos (Ciências Biológicas, Odontologia, Medicina, Farmácia, Fonoaudiologia, Nutrição, Agronomia, Enfermagem, Veterinária, Oceanografia, Aqüicultura) e outros.

Portanto, este livro tem como objetivo estratégico dar suporte sobre a Biologia Celular, cujo conhecimento prévio é fundamental para o desenvolvimento de outras disciplinas, como bioquímica, embriologia, histologia, fisiologia, biofísica, genética e outras.

É claro que muitas das informações aqui apresentadas deverão ser complementadas por uma bibliografia específica sobre Biologia Celular, que será apresentada no final deste livro.

Zenilda Laurita Bouzon
Rogério Gargioni
Luciane Cristina Ouriques

CAPÍTULO 1



Introdução ao Estudo das Células

Neste capítulo, identificaremos os vários tipos celulares, desde procariontes até eucariontes. Além disso, estudaremos a organização morfo-fisiológica das células procariontes e eucariontes, estabelecendo diferenças entre elas e a sua biogênese.

1.1 Introdução

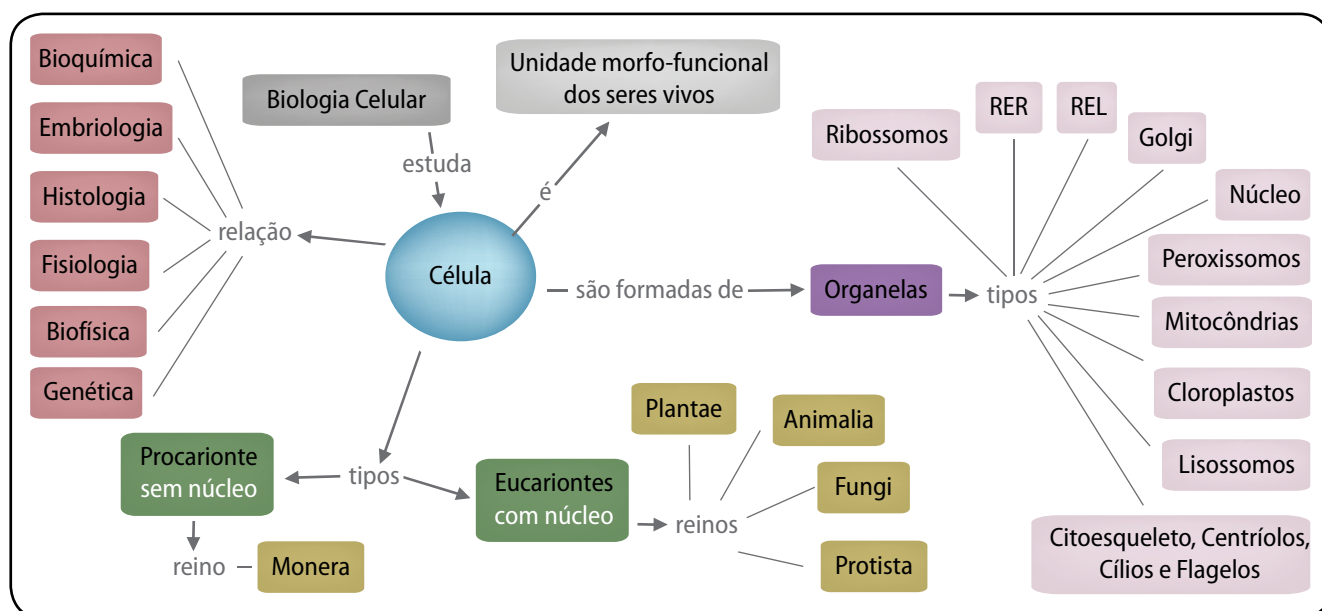
O estudo do universo biológico mostra que a evolução produziu uma imensa diversidade de formas vivas. Existem quatro milhões de espécies de animais, vegetais, fungos, protozoários e bactérias, cujos comportamentos, morfologia e funções diferem uns dos outros.

Todos os organismos vivos são constituídos de **células** – pequenas unidades envolvidas por membrana e preenchidas por uma solução aquosa de agentes químicos, dotadas com uma extraordinária capacidade de criar cópias de si mesmas pelo crescimento e posterior divisão. Portanto, célula é a unidade estrutural da vida, extremamente complexa, dinâmica e econômica.

Antes de iniciar o estudo da Biologia Celular, procure fazer uma análise do Mapa Conceitual apresentado na figura 1.1. Este mapa deve ser utilizado como uma ferramenta de ação pedagógica, bastante útil no ensino e na aprendizagem da Biologia Celular.

Célula
É a menor unidade
morfológica e funcional
dos seres vivos.

Figura 1.1 – Desenho esquemático do mapa conceitual de Biologia Celular (GARGIONI, R. 2009).



A célula é a menor unidade estrutural básica do ser vivo. Foi descoberta em 1667 pelo inglês Robert Hooke, que observou uma célula de cortiça (tecido vegetal morto) usando o microscópio. A partir daí, as técnicas de observação microscópicas avançaram em função de *novas técnicas* e aparelhos mais possantes. Pouco depois, comprovou-se que todas as células de um mesmo organismo têm o mesmo número de cromossomos. Este número é característico de cada espécie animal ou vegetal e responsável pela transmissão dos caracteres hereditários. O corpo humano tem cerca de 100 trilhões de células.

O uso de corantes, por exemplo, permitiu a identificação do núcleo celular e dos cromossomos, suportes materiais do gene (unidade genética que determina as características de um indivíduo).

Enquanto as células podem ser componentes de seres vivos maiores, nada, a não ser uma célula, poderá ser chamado de vivo. Os vírus, por exemplo, contêm alguns ou até o mesmo tipo de moléculas celulares, mas são incapazes de se reproduzirem por si mesmos; eles são reproduzidos pelo parasitismo da maquinaria celular que eles invadem e da qual se apropriam. Portanto, a célula é a unidade estrutural e funcional fundamental dos seres vivos, da mesma forma como o átomo é a unidade fundamental das estruturas químicas. Se por alguma razão a organização celular é destruída, a função da célula também é alterada.

A maioria dos organismos vivos são células unicelulares; outros organismos, como nós próprios, são constituídos por vastas cidades multicelulares, nas quais grupos de células realizam funções especializadas e estão ligados por intrincados sistemas de comunicação.

Teoria Celular

- *As células são as unidades morfológicas e fisiológicas de todos os organismos vivos;*
- *As propriedades de um dado organismo dependem das propriedades de cada uma de suas células;*
- *As células originam-se somente de outras células preexistentes e a continuidade é mantida através do material genético;*
- *A menor unidade da vida é a célula.*

1.2 Origem e evolução das células

Aminoácidos e
nucleotídeos.

Proteínas e ácidos
nucleicos.

Provavelmente, as primeiras células surgiram na Terra há cerca de 4 bilhões de anos. Antes dessa evolução biológica, houve uma evolução química que teve como cenário a Terra primitiva, com características bem diferentes da atual Terra. Compostos como metano, amônia, hidrogênio e vapor d'água combinaram-se para formar as primeiras **moléculas orgânicas**, que seriam mais tarde os componentes das grandes **moléculas celulares**.

Posteriormente, com o processo de seleção natural da Terra primitiva, houve uma combinação vitoriosa dessas grandes moléculas, favorecendo a evolução das células. Os ácidos nucleicos, por exemplo: conferindo estabilidade, alta capacidade de guardar informações e replicação e as proteínas com eficiente ação catalítica. Praticamente toda síntese de qualquer composto pelas células passa pelo comando do DNA e pela atuação catalisadora das proteínas.

Após o surgimento e aglomeração das primeiras moléculas informacionais, os coacervados ganharam poder de síntese de compostos orgânicos e de formarem novos coacervados com preservação das características originais. Nascia, assim, o mecanismo da reprodução e, conseqüentemente, as primeiras células. A partir de então, com o ganho de uma estabilidade e fidelidade físico-químicas, as primeiras células estavam prontas para perpetuarem-se e, por vezes, sofrerem mutações e pressões seletivas do meio, que desenharam o padrão celular atual.

Coacervados → ainda não são considerados seres vivos, mas sim aglomerados de proteinoides, que se mantêm juntos, mergulhados no líquido circundante em forma de pequenas esferas (microesferas).

Proteinoides → é uma molécula com as proteínas, formada inorganicamente a partir de aminoácidos.

As primeiras células que
surgiram eram aquáticas,
procariontes, anaeróbicas,
heterotróficas e assexuadas.

A manutenção da vida na Terra dependeu, então, do aparecimento das **primeiras células** autotróficas, capazes de sintetizar moléculas complexas a partir de substâncias muito simples e da

energia solar. Esse novo tipo celular seria provavelmente muito semelhante às “algas azuis” ou cianobactérias, que são bactérias ainda hoje existentes. Iniciou-se, assim, a fotossíntese, que ocorreu graças ao aparecimento, nas células, de certos pigmentos, como a clorofila.

Graças à fotossíntese, surgiu o oxigênio na Terra, e isso permitiu o aparecimento de células aeróbias, ao mesmo tempo em que criou uma cobertura protetora de ozônio nas camadas superiores da atmosfera. As bactérias anaeróbicas ficaram restritas a nichos especiais, onde não existe oxigênio.

A identidade celular foi conseguida a partir do momento em que a primeira célula ganha uma Membrana Plasmática, protetora e reguladora da entrada e saída de substâncias da célula. Isso torna o meio intracelular diferente, do ponto de vista físico-químico, do meio externo. Porém, o grande avanço adaptativo sofrido pelas células foi a formação de dobras, cisternas, vesículas, compartimentos e retículos originados da membrana primordial — era o nascimento da **Célula Eucarionte**, com seu Sistema de Endomembranas.

Esse sistema possibilitou maior crescimento celular, maior especialização, divisão de tarefas entre componentes celulares e eficiência metabólica, maior proteção do material hereditário e maior diversidade de rotas metabólicas.

Há evidências sugestivas de que as organelas envolvidas nas transformações energéticas, cloroplastos e mitocôndrias, se originaram de bactérias que foram fagocitadas, escaparam dos mecanismos de digestão intracelular e se estabeleceram como simbioses (**endossimbiontes**) nas células eucariontes hospedeiras, criando um relacionamento mutuamente benéfico. As principais evidências a favor dessa hipótese são:

- as mitocôndrias e os cloroplastos possuem genoma de DNA circular, como o das bactérias;
- essas organelas têm duas membranas, sendo a membrana interna semelhante, em sua composição, às membranas bacterianas, enquanto que a membrana externa, que seria a parede do vacúolo fagocitário, assemelha-se à membrana das células eucariontes hospedeiras.

• **Endossimbiose**
• Relação estreita entre dois
• organismos diferentes em
• que ambos se beneficiam da
• associação.

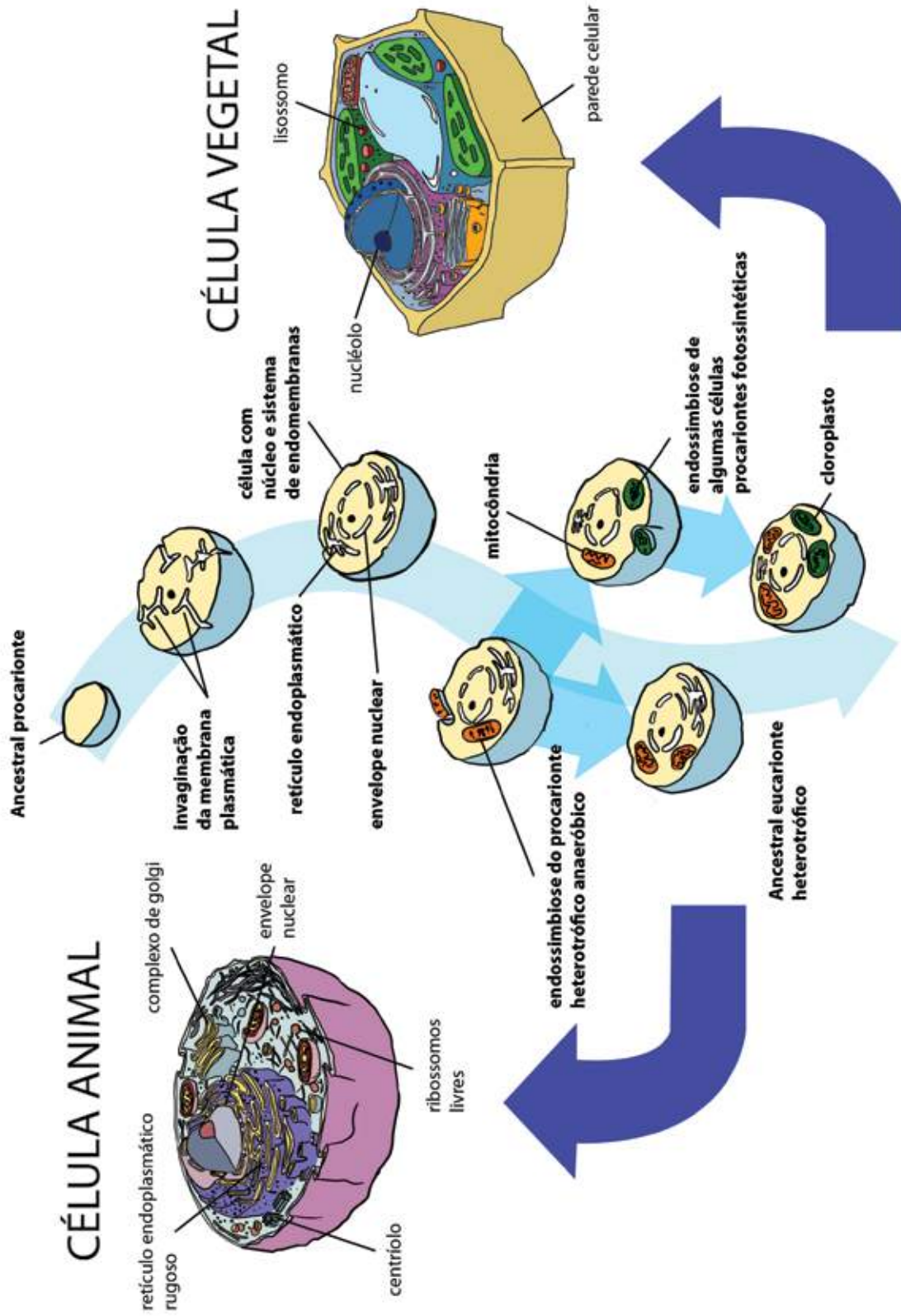


Figura 1.2 - Desenho esquemático mostrando a origem dos eucariotes atuais por simbiose de células aeróbicas com anaeróbicas.

A origem dessas organelas deu-se por endossimbiose. Supõe-se que a mitocôndria tenha evoluído de bactérias aeróbicas e o cloroplasto de bactérias fotossintéticas, como as cianobactérias. Dessa maneira, essas associações por endossimbiose foram altamente vantajosas e foram positivamente selecionadas pela evolução (Figura 1.2).

1.3 Classificação dos seres vivos

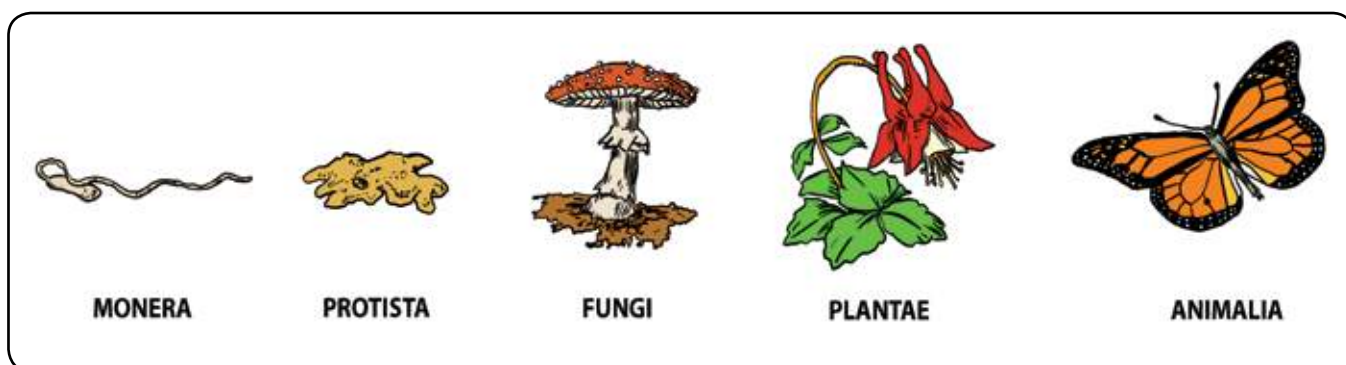


Figura 1.3- Desenho esquemático dos cinco reinos a que pertencem os seres vivos.

A classificação moderna dos seres vivos compreende cinco reinos (Figura 1.3):

- **Monera** - formado pelas bactérias e cianobactérias.
- **Protista** - compreende os protozoários e alguns grupos de algas.
- **Fungi** - compreende todos os fungos.
- **Plantae** - inclui as algas clorofíceas, rodofíceas e os vegetais superiores.
- **Animalia** – inclui todos os animais.

1.4 Vírus - Parasitas celulares obrigatórios

Os vírus são seres diminutos, visíveis apenas ao microscópio eletrônico, e constituídos por apenas duas classes de substâncias químicas: uma parte central, onde se encontra o genoma, que pode ser DNA ou RNA, na qual estão contidas, em código, todas as informações necessárias para a produção de outros vírus iguais;

e uma parte periférica, de composição protéica, denominada capsídeo, que armazena e protege o material genético viral.

O que diferencia os vírus de todos os outros seres vivos é que eles são acelulares, ou seja, não possuem estrutura celular. Assim, não têm a complexa maquinaria bioquímica necessária para fazer funcionar seu programa genético e precisam de células que os hospedem. Todos os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios. Desta forma, os vírus só são replicados dentro de células vivas. O ácido nucléico viral contém informações necessárias para programar a célula hospedeira infectada, de forma que esta passa a sintetizar várias macromoléculas vírus específicas necessárias à produção da progênie viral.

Atuando como um “pirata” celular, o vírus invade uma célula e assume o comando, fazendo com que ela trabalhe quase que exclusivamente para produzir novos vírus. A infecção viral geralmente causa profundas alterações no metabolismo celular, podendo levar à morte das células infectadas. Vírus causam doenças em plantas e em animais, incluindo o **homem**. Os vírus das bactérias são chamados bacteriófagos ou simplesmente fagos. (Figura 1.4)

Exemplos de doenças humanas comuns causadas por vírus são o sarampo, a varíola e diversos tipos de gripe.

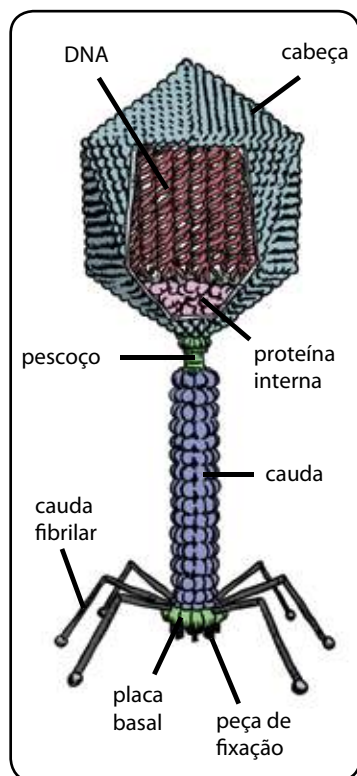


Figura 1.4 - Desenho esquemático da estrutura de um bacteriófago.

Fora da célula hospedeira, os vírus não manifestam nenhuma atividade vital: não crescem, não degradam nem fabricam substâncias e não reagem a estímulos. No entanto, se houver células hospedeiras compatíveis à sua disposição, um único vírus é capaz de originar, em cerca de 20 minutos, centenas de novos vírus.

1.5 Rickéttsias e Clamídias

São células incompletas e, por essa razão, só proliferam no interior de uma célula completa.

As bactérias dos grupos das rickéttsias e das clamídias são muito pequenas e constituídas por células procariontes incompletas, que não possuem a capacidade de autoduplicação independente da colaboração de outras células. Como os vírus, as rickéttsias e clamídias são parasitas celulares obrigatórios, pois só proliferam no interior das células completas. Todavia, as células incompletas diferem dos vírus em três aspectos fundamentais.

Em primeiro lugar, os vírus contêm apenas um tipo de ácido nucléico, que pode ser o ácido ribonucléico (RNA) ou o desoxirribonucléico (DNA), enquanto as células incompletas contêm ao mesmo tempo DNA e RNA. Em segundo lugar, os vírus carregam codificada no seu ácido nucléico a informação genética para a formação de novos vírus, mas não possuem organelas e, por isso, utilizam a maquinaria das células para se multiplicar. As células incompletas, ao contrário, têm parte da máquina de síntese para reproduzirem-se, mas necessitam da suplementação fornecida pelas células parasitadas. Em terceiro lugar, as células incompletas têm uma membrana semipermeável, através da qual ocorrem trocas com o meio, o que não acontece com os vírus.

O invólucro que alguns vírus possuem e que, em parte, é constituído de moléculas celulares, perde-se quando esses vírus penetram nas células. Provavelmente, as células incompletas são células “degeneradas”, isto é, que, no decorrer dos anos, perderam parte do seu DNA, de suas enzimas e, portanto, sua autonomia, tornando-se dependentes das células que se conservaram completas.

1.6 Características gerais das células

Os organismos vivos podem ser classificados, de acordo com as estruturas internas das células (Tabela 1), em dois grupos: os **procariontes** e os **eucariontes**. As células procariontes geralmente são menores e mais simples do que as células eucariontes; não possuem núcleo e seus genomas são menos complexos.

Tabela 1 – Organização das Células Procariontes e Eucariontes		
Características	Células Procariontes	Células Eucariontes
Dinâmica da célula	≈ 1 mm	10 – 100 mm
Núcleo	Ausente	Presente
Organelas citoplasmáticas	Ausente	Presente
Citoesqueleto	Ausente	Presente

Os **procariontes** (pro, primeiro, e cario, núcleo), cujo DNA não está separado do citoplasma por membrana, e os **eucariontes** (eu, verdadeiro, e cario, núcleo), com o DNA contido em um compartimento limitado por uma membrana.

Tabela 1 – Organização das Células Procariontes e Eucariontes		
Características	Células Procariontes	Células Eucariontes
Cromossomos	Uma única fita de DNA circular	Múltiplas moléculas de DNA linear
Divisão Celular	Fusão Binária	Mitose e meiose

Tabela 1 – Organização das células procariontes e eucariontes.

1.7 Organização geral das células procariontes

Bactérias — São microorganismos constituídos por uma célula, sem núcleo celular e nenhum tipo de compartimentalização interna por membranas, estando ausentes várias outras organelas, como as mitocôndrias, o complexo de Golgi e o fuso mitótico.

As bactérias constituem os menores seres vivos, com dimensões máximas tipicamente da ordem dos 0,5 a 1mm. Esse tamanho reduzido, acredita-se, deve-se ao fato de não possuírem compartimentos membranosos.

Esses microrganismos possuem as estruturas celulares mais simples, porém, em termos bioquímicos, são os seres mais diversos e inventivos que existem na natureza. A maioria das bactérias reproduz-se rapidamente, por cissiparidade, também chamada de divisão simples ou bipartição.

As bactérias podem ser encontradas numa ampla diversidade de nichos ecológicos, de lama quente de origem vulcânica ao interior de outros organismos vivos. Por apresentarem uma grande variedade de diferentes metabolismos, as bactérias podem ser divididas em: fototróficas, quando obtêm a energia na forma de luz para a **fotossíntese**; e **quimiotróficas**, quando obtêm energia pela oxidação de compostos químicos.

Neste segundo grupo, se o doador de energia for um composto inorgânico, tal como água, sulfureto de hidrogênio ou amônia, é considerado quimiolitotrófico. Quando o composto é orgânico, tal como açúcar, aminoácidos ou hidrocarbonetos, é considerado quimiorganotrófico. Outros requisitos nutricionais das bactérias

incluem nitrogênio, enxofre, fósforo, vitaminas e elementos metálicos como sódio, potássio, cálcio, magnésio, manganês, ferro, zinco, cobalto, cobre e níquel.

No que diz respeito à sua reação ao oxigênio, a maioria das bactérias podem ser colocadas em três grupos: **aeróbicas** — que podem crescer apenas na presença de oxigênio; **anaeróbicas** — que podem crescer apenas na ausência de oxigênio; e **anaeróbicas facultativas** — que podem crescer tanto na presença como na ausência de oxigênio.

Muitas bactérias vivem em ambientes que são considerados extremos para o homem e são, por isso, denominadas extremófilas, como por exemplo: **termófilas** — que vivem em fontes termais; **halófilas** — que vivem em lagos salgados; **acidófilas** e **alcalinófilas** — que vivem em ambientes ácidos ou alcalinos; **psicrófilas** — que vivem nos glaciares. As bactérias se constituem nos seres mais numerosos existentes.

Vários tipos de bactérias contêm como componentes de sua estrutura, ou liberam para o meio de cultura, substâncias tóxicas, que recebem o nome de **endotoxinas** e **exotoxinas**.

As bactérias são tipicamente esféricas (cocos), em forma de bastonetes (bacilo), em forma de vírgula (vibrião) e espiraladas (espirilo). Quanto ao grau de agregação (formação de colônias), os cocos são agrupados: aos pares (diplococos), dispostos em fileiras (estreptococos) e com uma forma desorganizada de agrupamento (estafilococos), de forma cúbica, formado por 4 ou 8 cocos simetricamente (sarcina). (Figura 1.5)

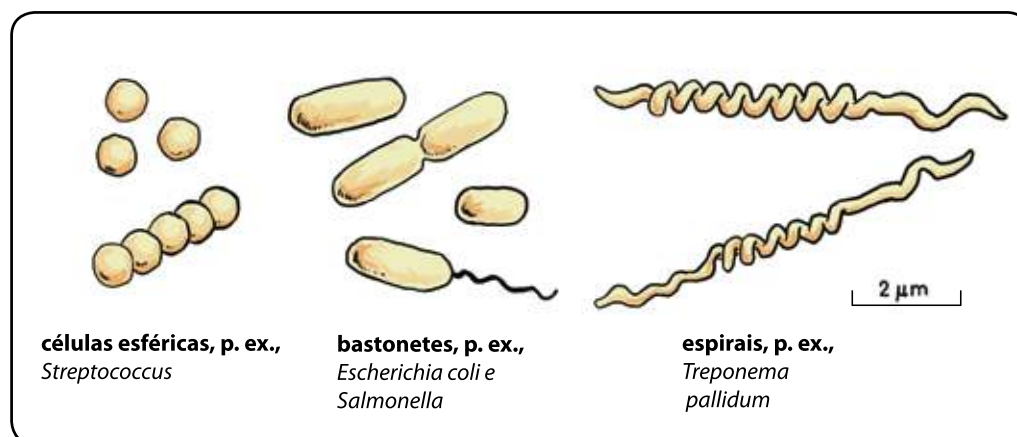


Figura 1.5 - Tamanho e forma das bactérias. Desenho esquemático mostrando formas típicas de bactérias esféricas, bastonetes espiraladas em escala. A forma espiralada é o agente causal da sífilis. (Ilustração baseada em: ALBERTS et al., p. 23).

1.8 Estrutura celular das bactérias

A estrutura celular bacteriana é a de uma célula procariótica, sem organelas envolvidas por membrana, tais como mitocôndrias ou cloroplastos. Nelas, geralmente, a única membrana presente é membrana plasmática. Além disso, não possuem um núcleo rodeado por uma cariomembrana e não têm o DNA organizado em verdadeiros cromossomos, como os das células eucariontes.

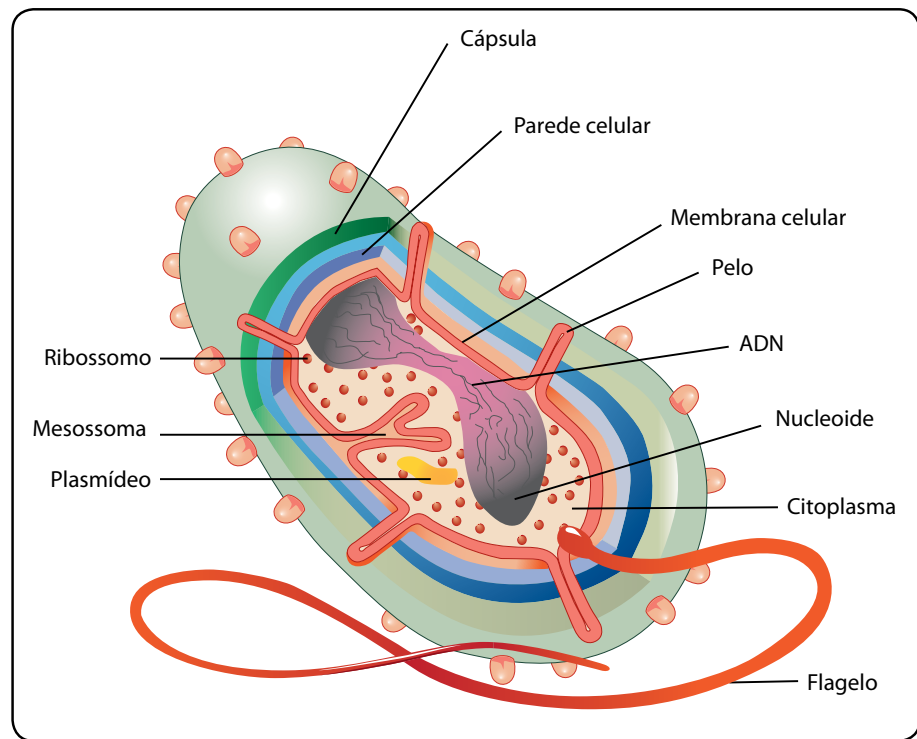


Figura 1.6 - Desenho esquemático mostrando as estruturas principais de uma bactéria.

A célula da bactéria é delimitada por uma membrana plasmática em torno da qual se encontra uma espessa e rígida camada, a parede bacteriana. Por fora da parede, pode ocorrer uma terceira camada, viscosa, que, em algumas espécies, é espessa, constituindo a cápsula (Figura 1.6).

A **membrana plasmática** das bactérias é uma estrutura lipoprotéica que serve como barreira para os elementos presentes no meio circundante. Nela se situam as moléculas receptoras, as proteínas relacionadas com o transporte transmembrana e as moléculas da cadeia respiratória análogas à existente na membrana das mitocôndrias das células eucariontes.

Às vezes, a membrana plasmática sofre invaginações, designadas de **mesossomas**, que nunca dela se libertam. A função destas pode estar relacionada com a divisão celular ou com a produção de energia.

A **parede celular** bacteriana é uma estrutura rígida que recobre a membrana citoplasmática, confere forma às bactérias e serve como proteção mecânica.

De acordo com a constituição da parede celular, as bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos: **Gram-positivas** e **Gram-negativas**. A parede das células gram-positivas é formada de uma espessa camada de peptidoglicanas. Já a parede das células gram-negativas é mais complexa, sendo formada de dentro para fora de uma camada de peptidoglicanas, mais delgada do que as bactérias gram-positivas; uma camada de lipoproteínas; a membrana externa, de estrutura trilaminar, como as das demais membranas celulares e a camada de lipopolissacarídeos.

A **cápsula** é uma camada viscosa, externa à parede celular, que está presente em muitas bactérias. A cápsula é geralmente de natureza polissacarídica, apesar de existirem cápsulas constituídas de proteínas. Ela constitui um dos antígenos de superfície das bactérias e está relacionada com a virulência da bactéria, uma vez que a cápsula confere resistência à fagocitose.

Existem dois **tipos de prolongamentos** observados na superfície das bactérias: os flagelos e as fímbrias.

O **flagelo** bacteriano é um tubo oco, móvel, composto pela proteína flagelina, que roda como uma hélice; a rotação movimenta as células através do meio. Bactérias que apresentam um único flagelo são denominadas monotríquias e bactérias com inúmeros flagelos são denominadas peritríquias. Via de regra, bacilos e espirilos podem ser flagelados, enquanto cocos, em geral, não o são.

As **fímbrias** ou pili são estruturas curtas e finas, de natureza protéica, que muitas bactérias gram-negativas apresentam em sua superfície. Não estão relacionadas com a mobilidade e sim com a capacidade de adesão. Outro tipo de fímbria é fímbria sexual, que é necessária para que a bactéria possa transferir material genético no processo denominado conjugação.

O citoplasma das células **bactérias** delimita um único compartimento que contém pequenos grânulos citoplasmáticos, **os ribossomos**. Os ribossomos são constituídos por rRNA e proteínas; possuem uma subunidade maior e outra menor. Os ribossomos estão contidos em polissomos e neles acontece a síntese protéica. O citoplasma também contém água, íons, outros tipos de RNAs, proteínas estruturais e enzimáticas, diversas moléculas pequenas etc.

O **nucleóide** não é um verdadeiro núcleo, já que não está delimitado do resto da célula por membrana. O nucleóide é formado por um filamento circular de DNA, localizado próximo ou mesmo ligado à membrana plasmática. Consiste em uma única grande molécula de DNA com proteínas associadas. É possível, às vezes, evidenciar mais de um cromossomo numa bactéria em fase de crescimento, uma vez que a sua divisão precede a divisão celular. O cromossomo bacteriano contém todas as informações necessárias à sobrevivência da célula e é capaz de auto-replicação.

Além do DNA do nucleóide, algumas bactérias contêm também outros filamentos circulares de DNA, extra cromossômicos e muito pequenos, denominados de plasmídeos. Os **plasmídeos** são moléculas autônomas, isto é, são capazes de autoduplicação independente da replicação do cromossomo e podem existir em número variável no citoplasma bacteriano. São comumente trocadas na “reprodução sexual” entre bactérias. Os plasmídeos têm genes para a própria replicação e genes que protegem a célula contra os antibióticos. Todavia, não são essenciais para a vida da bactéria. Utilizando-se técnicas de engenharia genética, é possível isolar os plasmídeos, inserir-lhes fragmentos específicos de DNA (genes) e então transplantá-los a outras bactérias.

1.9 Micoplasmas

São as menores células bactérias de vida livre conhecidas, geralmente com 0,2 mm a 2 mm de tamanho. Eles ficam entre as menores bactérias e os maiores vírus. Em termos estruturais, a diferença principal entre as bactérias e os micoplasmas é que as bactérias possuem uma parede celular sólida, e por esse motivo uma for-

ma definida, ao passo que os micoplasmas possuem apenas uma membrana plasmática e, por isso, são pleomórficos (têm forma variável). Os micoplasmas podem produzir doenças infecciosas em diferentes animais e no homem.

1.10 Cianobactérias

Conhecidas popularmente como algas azuis, são as bactérias fotossintetizantes, dotadas de clorofila e *ficobilinas*. Além desses dois pigmentos, as cianobactérias apresentam os carotenos e as xantofilas, de cores amarela, laranja ou marrom. Essa mistura de pigmentos, verdes, azuis, vermelhos, amarelos e alaranjados, faz com que tais bactérias possam apresentar-se com praticamente qualquer cor, sendo, no entanto, predominantemente verde-azuladas.

As cianobactérias são organismos aquáticos, sendo que a maioria das espécies encontra-se em água doce, havendo algumas marinhas e outras em solo úmido. Outras espécies são endosimbiontes em líquens ou em vários protistas, fornecendo energia aos seus hospedeiros. Algumas cianobactérias, além de fotossintéticas, são capazes de reduzir nitrogênio para formar amônia (NH_3).

A organização morfológica das cianobactérias é muito simples, podendo ser unicelulares ou coloniais; porém, formas filamentosas, simples ou ramificadas e mesmo parcialmente multisseriadas são freqüentes.

A organização celular das cianobactérias é basicamente semelhante à das bactérias, pois exibem parede celular, membrana plasmática, nucleóide, ribossomos, proteínas e lipídios. Entretanto, atingem maior complexidade morfológica e não possuem flagelo. Além disso, suas células estão envolvidas por uma bainha de mucilagem externa à parede celular, composta possivelmente por ácidos pécticos e mucopolissacarídeos.

A parede celular é semelhante à das bactérias gram-negativas. Seus pigmentos fotossintetizantes estão agrupados em microcorpúsculos, os ficobilissomos, localizados em lamelas - invaginações da membrana plasmática, chamadas de tilacóides -, que ficam soltos

As ficobilinas são proteínas. Dentre elas, estão a ficocianina e a ficoeritrina, que dão cor azul e vermelha, respectivamente, ao organismo.

Certas algas azuis podem produzir toxinas e liberá-las para o meio onde vivem. Existem vários registros, no mundo todo, de mortes de aves, peixes e mamíferos causados pela ingestão dessas águas contaminadas.

na periferia celular. Suas células possuem, como produto de reserva, grânulos de amido conhecidos como amido das cianofíceas.

Além de reversas de polissacarídeos, as cianobactérias apresentam grânulos de cianoficina, grânulos de polifosfatos, corpúsculos poliédricos e vacúolos de gás. Estes últimos possivelmente estão ligados à flutuabilidade dos organismos, controlando sua posição na coluna de água (Figura 1.7).

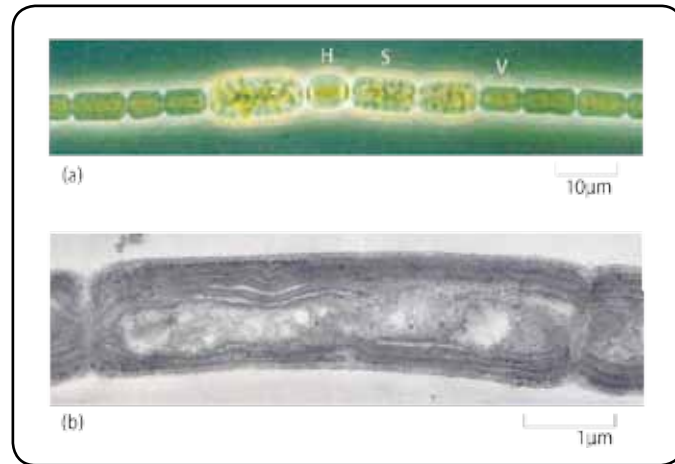


Figura 1.7 - (a) Dois tipos de bactérias fotossintéticas. *Anabaena cylindrica* visualizada ao microscópio óptico. Estas células procariontes formam longos filamentos multicelulares, nos quais células especializadas (H) fixam nitrogênio (isto é, capturam N_2 da atmosfera e o incorporam em compostos orgânicos), enquanto as outras células são fotossintéticas e fixam CO_2 (V) ou se tornam esporos resistentes (S). (b) Micrografia eletrônica de *Phormidium laminosum*, mostrando suas membranas intracelulares onde ocorre a fotossíntese. (ALBERTS et al., p. 24).

As cianobactérias se reproduzem apenas assexuadamente, pela simples divisão celular; reprodução sexuada está ausente. Por não apresentarem flagelos, elas se movimentam por deslizamento e rotação.

1.11 Organização geral das células eucariontes

As células eucariontes são muito maiores que as células procariontes, freqüentemente tendo um volume celular, no mínimo, mil vezes maior (Figura 1.8).

A organização interna das células eucariontes é complexa. Nela, duas partes estão morfologicamente bem definidas — o **citoplas-**

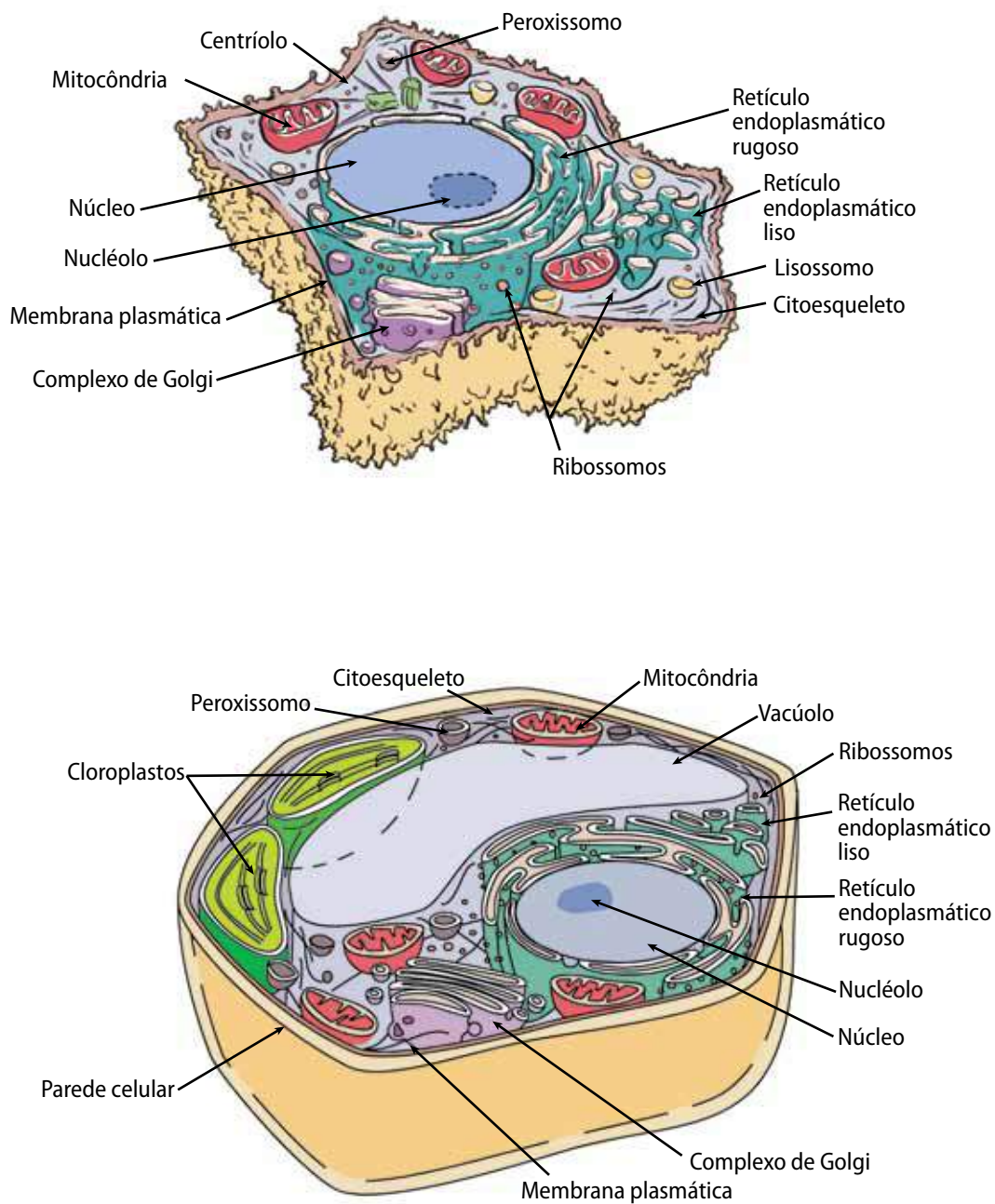


Figura 1.8 – Estrutura das células animais e vegetais. (COOPER, p. 34).

O citosol contém água, íons diversos, aminoácidos, precursores dos ácidos nucleicos, numerosas enzimas, incluindo as que realizam a glicólise anaeróbia e as que participam da degradação e síntese de hidratos de carbono, de ácidos graxos, de aminoácidos e de outras moléculas importantes para as células.

ma e o núcleo. O núcleo constitui um compartimento limitado por um envoltório nuclear e o citoplasma é envolto pela membrana plasmática. No citoplasma, uma variedade de organelas envolvidas por membrana estão presentes, como **retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos, peroxissomos, cloroplastos e mitocôndrias.**

Esses sistemas de endomembranas formam compartimentos que separam os diversos processos metabólicos, graças ao direcionamento das moléculas absorvidas e às diferenças enzimáticas entre as membranas dos vários compartimentos. Preenchendo o espaço entre essas organelas, encontra-se a matriz citoplasmática ou **citosol**. Além disso, as células eucariontes têm outro nível de organização interna - o citoesqueleto, responsável pelos movimentos e pela forma das células.

Membrana plasmática

É fundamental para a vida da célula. A membrana plasmática envolve a célula, define os seus limites e separa o conteúdo celular do meio extracelular. É uma película delgada com cerca de 7 a 10nm de espessura, só podendo ser observada no microscópio eletrônico.

A membrana plasmática é composta por uma bicamada lipídica contínua e por proteínas inseridas.

Ribossomos

São grânulos citoplasmáticos constituídos de **ribonucleoproteínas**. Cada um é formado por duas unidades de tamanhos diferentes. Podem estar livres no citoplasma ou aderidos à face externa da membrana do retículo endoplasmático rugoso. Os ribossomos são locais da síntese protéica nas células, associando-se a filamentos de RNA mensageiro (mRNA) para formar os polirribossomos.

Retículo endoplasmático

O retículo endoplasmático (RE) é constituído por uma rede membranosa de sacos achatados e tubulares que delimitam cavidades ou cisternas e que se intercomunicam. O RE se estende a

partir da membrana externa do envelope nuclear se espalhando pelo citoplasma. Dois tipos morfológicos de RE são identificados: **RE Rugoso** ou **granular** e **RE Liso** ou **agranular**.

O RE Rugoso apresenta forma achatada e ribossomos aderidos na sua superfície externa. Os ribossomos associam-se as membranas do retículo na forma de polissomos, encontrando-se em plena atividade de síntese protéica. O RE Liso apresenta forma mais tubular e está envolvido principalmente com a síntese de lipídios.

Complexo de Golgi

Essa organela é constituída por pilhas de sacos achatados e membranosos, associados a vesículas. Nela, são processadas e organizadas as proteínas vindas do retículo endoplasmático para o transporte ao destino final, incorporadas ao lisossomo, à membrana plasmática ou exportadas da célula. Além do papel de transporte de proteínas, o complexo do Golgi serve como local para o metabolismo de lipídios e (em células vegetais) como local de síntese de alguns polissacarídeos que formam a parede celular.

Lisossomos

Essas organelas são vesículas membranosas contendo diversas enzimas hidrolíticas, com atividade máxima em pH ácido. As enzimas lisossomais são sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso e são responsáveis pela digestão das substâncias incorporadas na célula, por endocitose ou degradação de organelas envelhecidas da própria célula por autofagia.

Peroxissomos

São vesículas delimitadas por membrana e que contêm enzimas envolvidas em uma grande variedade de reações metabólicas, dentre elas, enzimas oxidativas. Essas enzimas realizam reações de oxidação, levando à produção de peróxido de hidrogênio. Como o peróxido de hidrogênio é tóxico para as células, os peroxissomos possuem também a enzima catalase, que decompõe esse composto orgânico, convertendo-o em água ou utilizando-o para oxidar

outros compostos orgânicos. Apesar de os peroxissomos serem morfológicamente semelhantes aos lisossomos, suas proteínas são sintetizadas em ribossomos livres no citoplasma.

Mitocôndrias

As mitocôndrias são organelas delimitadas por um sistema de dupla membrana, consistindo de uma membrana externa e uma membrana interna separadas por um espaço intermembranoso. A membrana interna envolve a matriz mitocondrial e apresenta pregas (cristas). As mitocôndrias são responsáveis pela geração de ATP a partir da degradação de moléculas orgânicas e são sítio de respiração aeróbica. A energia armazenada no ATP é usada pelas células para realizar diversas atividades, como movimentação, secreção e multiplicação.

Núcleo

Nas células eucariontes, o núcleo abriga o genoma, o conjunto total de genes que é responsável pela codificação das proteínas e enzimas que determinam a constituição e o funcionamento da célula e do organismo. O núcleo é envolvido por uma dupla membrana porosa, chamada de envelope nuclear, que regula a passagem de moléculas entre o interior do núcleo e o citoplasma. Os genes são segmentos de DNA, o ácido desoxirribonucleico, molécula orgânica que armazena em sua estrutura molecular as informações genéticas. O DNA se combina fortemente a proteínas denominadas histonas, formando um material filamentosso intranuclear, a cromatina. Todas as moléculas de RNA do citoplasma são sintetizadas no núcleo, e todas as moléculas protéicas do núcleo são sintetizadas no citoplasma.

Citoesqueleto

É uma rede tridimensional intracitoplasmática de filamentos protéicos, constituída basicamente de três tipos: os filamentos de actina, os filamentos intermediários e os microfilamentos. Muitos filamentos de actina se ligam a proteínas específicas da membrana plasmática, e deste modo conferem forma e rigidez às membranas plasmáticas e à superfície celular. Além de dar forma às células, o citoesqueleto proporciona movimento direcionado interno de or-

ganelas e possibilita o movimento da célula como um todo (por exemplo, em macrófagos, leucócitos e em protozários). Nos músculos, a rede de proteínas fibrilares (notadamente as proteínas actina e miosina) causa a contração e a distensão das células musculares. Os microtúbulos formam os cílios e flagelos; os cromossomos são levados às células filhas pelo fuso, um complexo de microtúbulos.

Centríolos

São uma estrutura de forma cilíndrica composta de microtúbulos protéicos. Os centríolos são ausentes em procariontes e em vegetais superiores. Durante a divisão celular, em seu redor, forma-se o fuso mitótico.

1.12 Características que distinguem as células vegetais das células animais

As células animais e vegetais são células eucariontes que se assemelham em vários aspectos morfológicos, como a estrutura molecular da membrana plasmática e de várias organelas (Tabela 2), e são semelhantes em mecanismos moleculares como a replicação do DNA, a transcrição em RNA, a síntese protéica e a transformação de energia via mitocôndrias.

A presença da parede celular, vacúolo, plastídios e a realização de fotossíntese são as principais características que fazem a célula vegetal ser diferente da célula animal.

Parede celular

É um envoltório rígido que envolve a célula, conferindo sustentação e imobilidade celular, agindo como um “exoesqueleto” da planta; determina o formato celular e a forma da própria planta e também evita que a célula arrebente quando mergulhada em um meio hipotônico. Geralmente é permeável à troca de íons entre o exterior e o interior da célula.

Na sua composição química encontramos várias substâncias, das quais as mais importantes são:

- **Celulose:** é um polissacarídeo formado pela condensação de muitas moléculas de β de glicose;
- **Hemicelulose e Substâncias pécticas:** são também polissacarídeos;
- **Cutina e suberina:** são lipídios (gorduras) impermeáveis à água, utilizados todas as vezes em que a planta necessita proteger as paredes contra a perda de água. A cutina forma a película que reveste as folhas e os frutos, e a suberina aparece no tecido chamado súber (cortiça);
- **Lignina:** é uma das substâncias mais resistentes dos vegetais, utilizada toda vez que o vegetal requer uma sustentação eficiente. Essa substância aparece nos tecidos vegetais como o esclerênquima e o xilema. O xilema é que constitui a madeira, cuja resistência se deve à lignina.

Existem 2 tipos de parede celular nos vegetais:

- **Parede Celular Primária:** que se desenvolve na célula jovem; única parede em células que se dividem ativamente → células vivas.

Composição: celulose (30%), hemicelulose (15-25%), pectinas (30%) e proteínas (10%), água. A estrutura microfibrilar de celulose é geralmente entrelaçada.

- **Parede Celular Secundária:** forma-se na superfície interna da parede primária. Depois da sua deposição, a célula pára de crescer e morre. Importante em células especializadas → sustentação.

Composição: celulose (50% – 80%), hemicelulose (5 – 30%) e lignina (15 – 35%). Pouca ou nenhuma pectina, proteínas e água. A estrutura microfibrilar de celulose é geralmente organizada e disposta em camadas.

Esclerênquima – tecido de sustentação.

Xilema – tecido vascular responsável pelo transporte de nutrientes através da planta.

Plastídios

Os plastídios, assim como as mitocôndrias, são delimitados por dupla membrana e classificados de acordo com o pigmento: leucoplastos (sem pigmentos), cromoplastos (carotenóides) e cloroplastos (clorofila). Os cloroplastos são os sítios da fotossíntese, processo de conversão do dióxido de carbono em açúcar e oxigênio utilizando a energia luminosa.

Vacúolos

É uma organela que possui uma membrana (tonoplasto) preenchida com um suco celular, solução aquosa contendo vários sais, açúcares, pigmentos. Armazenam metabólitos, quebram e reciclam macromoléculas. O vacúolo pode ocupar a maior parte do volume da célula, reduzindo o citoplasma funcional a uma delgada faixa na periferia celular.

Tabela 2 - Comparativa das características que diferem as células vegetais das células animais.

	Célula Animal	Célula Vegetal
Membrana Plasmática	Presente	Presente
Núcleo	Presente	Presente
Ribossomo	Presente	Presente
Retículo Endoplasmático	Presente	Presente
Complexo de Golgi	Presente	Presente
Mitocôndrias	Presente	Presente
Lisossomo	Presente	Ausente
Peroxisomo	Presente	Presente
Citoesqueleto	Presente	Presente
Centríolos	Presente	Ausente
Plastídios	Ausente	Presente
Vacúolo	Ausente	Presente
Parede Celular	Ausente	Presente
Comunicação entre células	Junções comunicantes	Plasmodesmos
Reserva	Glicogênio	Amido
Citocinese	Centrípeta	Centrífuga

Tabela 2 - Comparativa das características que diferem as células vegetais das células animais.

Resumo

Todos os organismos vivos são constituídos de células — menores unidades estruturais da vida, extremamente complexas, dinâmicas e econômicas. As células podem ocorrer isoladamente, nos seres unicelulares, ou formar arranjos ordenados, os tecidos, que constituem o corpo dos seres pluricelulares.

Enquanto as células podem ser componentes de seres vivos maiores, nada, a não ser uma célula, poderá ser chamado de vivo. Os vírus, por exemplo, são estruturas não celulares que só se multiplicam no interior das células, cuja maquinaria utilizam para a produção de novos vírus. Portanto, são parasitas intracelulares obrigatórios. As rickettsias e clamídias são células incompletas e, por essa razão, só proliferam no interior de uma célula completa. Como os vírus, as rickettsias e clamídias são parasitas celulares obrigatórios.

Todas as células atuais são descendentes de uma célula ancestral que existiu há cerca de 4 bilhões de anos.

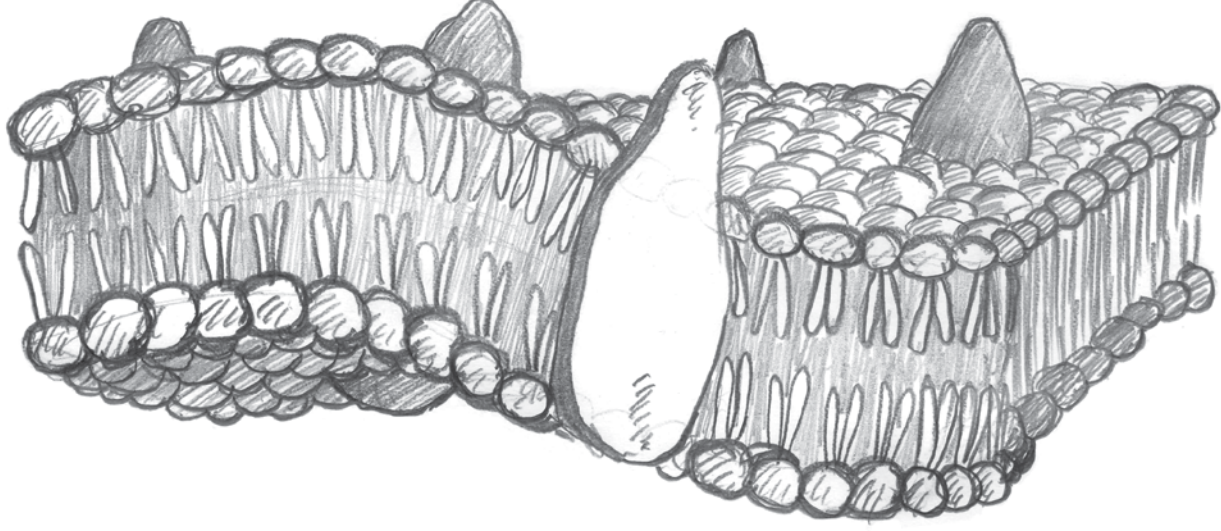
Os organismos vivos podem ser classificados, de acordo com as estruturas internas das células, em dois grupos: os procariontes e os eucariontes.

As células procariontes geralmente são menores e mais simples do que as células eucariontes; além de não possuírem núcleo, seus genomas são menos complexos e localizados num espaço citoplasmático chamado de nucleóide. Essas células não apresentam citoesqueleto e nenhum tipo de compartimentalização interna por membranas; existe apenas a membrana plasmática, que pode apresentar dobras dirigidas para dentro das células: os mesossomas. Nas células procariontes fotossintéticas, como as bactérias cianofíceas, existem algumas membranas citoplasmáticas que, associadas à clorofila, são responsáveis pela fotossíntese. As bactérias são diversas em termos de capacidade química e habitam nichos ecológicos variados e extraordinários.

As células eucariontes são maiores e mais complexas que as células procariontes; contêm um núcleo, organelas citoplasmáticas e um citoesqueleto. O núcleo contém a informação genética estoca-

da na estrutura de moléculas de DNA. O citoesqueleto é formado por filamentos protéicos e se estende por todo o citoplasma. Controla a forma e o movimento celular e permite que as organelas e as moléculas sejam transportadas de um local a outro no citoplasma. O citoplasma é constituído por sistemas de endomembranas que formam compartimentos, separando os diversos processos metabólicos graças ao direcionamento das moléculas absorvidas e às diferenças enzimáticas entre as membranas dos vários compartimentos. A membrana plasmática é fundamental para a vida da célula. Ela define os seus limites e mantém as diferenças essenciais entre o citoplasma e o meio extracelular.

CAPÍTULO 2



Membrana Plasmática

Neste capítulo, estudaremos a ultra-estrutura, a composição química e as funções da membrana plasmática, além de conhecer e indicar as funções de cada um dos tipos de especializações. Além disso, conheceremos os tipos de transporte de substâncias através da membrana e como isso ocorre.

2.1 Introdução

A membrana plasmática ou membrana celular é um envoltório que delimita todas as células, desde a mais simples, como as bactérias, até as mais complexas, como os neurônios. Ela estabelece um limite entre o meio intracelular e o meio extracelular. A membrana plasmática pode ser considerada como a entidade reveladora dos estados metabólicos celulares, uma vez que é a responsável pelas relações intercelulares ou as realizadas entre as células e o seu meio.

Todas as células, tanto as procariontes como as eucariontes, são envolvidas por uma membrana. Funcionando como uma barreira seletiva para a passagem de moléculas, a membrana plasmática possui um papel muito importante, que é o de transportar substâncias para dentro ou para fora da célula. A capacidade que a membrana plasmática possui de selecionar moléculas que entram e saem da célula determina a composição química do citoplasma, definindo, com isso, a real identidade da célula.

2.2 Estrutura da membrana plasmática

Como outras membranas celulares, a membrana plasmática é **lipoprotéica**, isto é, constituída por lipídios e proteínas. Os lipídios se organizam formando uma bicamada, que constitui a estrutura fundamental das membranas celulares. Nesta bicamada lipídica, que é impermeável para a maioria das moléculas solúveis em água, estão inseridas as chamadas proteínas.

A membrana plasmática, devido a sua diminuta espessura de 6 a 9 nm, só é observada através do microscópio eletrônico. Entretanto, sua existência já era conhecida antes do advento dessa tecnologia e das técnicas de preparo. Uma das primeiras evidências foi a constatação de que o volume celular se modificava de acordo com a concentração das soluções nas quais as células eram submetidas.

Observadas pela microscopia eletrônica, as membranas celulares apresentam uma estrutura trilaminar (designada por J. David Robertson, 1957), sendo constituídas por duas faixas escuras, cada qual com aproximadamente 2 nm de espessura, e uma faixa central clara com 3,5 nm de espessura, perfazendo um total de 7,5 nm (Figura 2.1). Esta imagem resulta da ligação eletrodensa de um corante especial, chamado tetróxido de ósmio, que possui muita afinidade pelas regiões polares, tanto das proteínas como também dos lipídios. Essa estrutura trilaminar é comum às outras membranas encontradas nas células, por isso recebeu o nome de **unidade de membrana**.

Todas as membranas celulares, tanto as que pertencem ao grupo das procariontes como das eucariontes, apresentam a mesma organização básica, isto é, são constituídas por duas camadas de lipídios, principalmente de fosfolipídios, onde estão inseridas uma quantidade variável de moléculas protéicas, que são mais numerosas nas membranas com maior atividade funcional.

Essa mesma organização básica pode ser observada nas organelas que são constituídas de membranas, como as mitocôndrias, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, os lisossomos, as vesículas de secreção, os peroxissomos e o envelope nuclear.

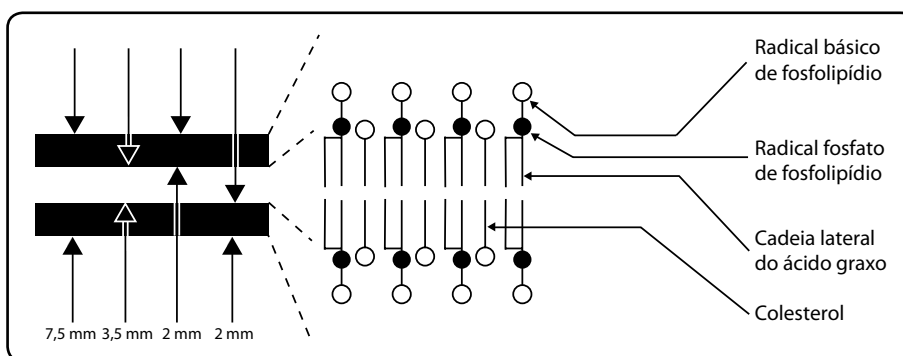


Figura 2.1 - À esquerda, aspecto da membrana vista ao microscópio eletrônico (duas lâminas escuras e uma lâmina central clara). À direita, disposição dos lipídios. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 82).

2.3 Proteínas de membrana

Proteínas são moléculas que contêm carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio. Estes quatro elementos, quando combinados, formam os chamados aminoácidos, que quando ligados entre si através de ligações peptídicas, formam as proteínas.

Enquanto os lipídios são moléculas fundamentais na estruturação de membranas, as **proteínas** possuem um papel muito importante, que é desempenhar a maioria das suas funções. São as moléculas mais abundantes e importantes nas células e perfazem 50% ou mais de seu peso seco. São encontradas em todos os tipos celulares, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e das funções celulares.

Portanto, **proteínas** são moléculas que dão a cada tipo de membrana as **propriedades funcionais** características.

As diferentes proteínas estão associadas às membranas celulares de diferentes formas, como ilustrado na Figura 2.2.

As proteínas podem estar associadas à bicamada lipídica de duas maneiras: como **proteínas integrais** e como **proteínas periféricas**. As proteínas periféricas estão ligadas às regiões polares

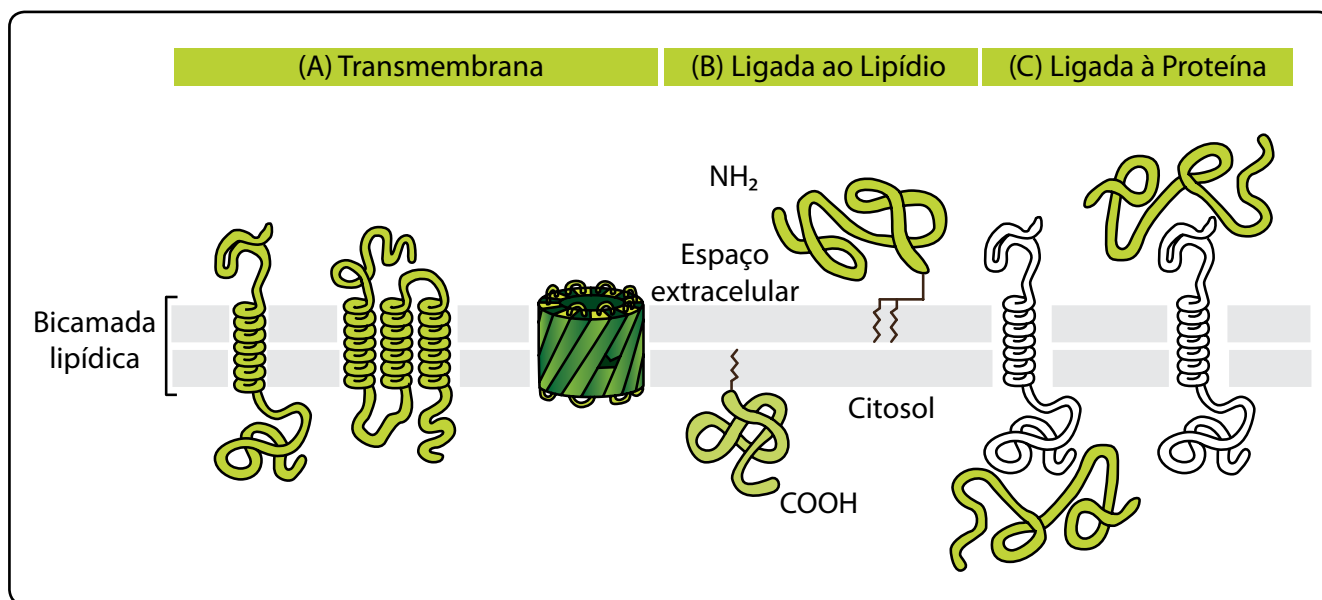


Figura 2.2 - Modos pelos quais as proteínas da membrana plasmática associam-se com a bicamada lipídica. (A) Proteínas transmembrana podem estender-se pela bicamada lipídica como uma única α -hélice, como múltiplas α -hélices ou como β -folha fechada (um β -barril). (B) Outras proteínas das membranas são unidas à bicamada apenas por uma ligação covalente a uma molécula lipídica (linhas vermelhas em ziguezague). (C) Finalmente, muitas proteínas são ligadas à membrana apenas por interações relativamente fracas, não covalentes, como outras proteínas da membrana. (Ilustração baseada em ALBERTS, et al., p. 375).

das proteínas, enquanto que as proteínas integrais, tanto as trans-membrana como as não trans-membrana, estão localizadas entre os lipídios.

A membrana plasmática possui aproximadamente 60% de proteínas e 40% de lipídios, e as proteínas das membranas internas das mitocôndrias e dos cloroplastos, que estão envolvidas na produção de energia (ATP), isto é, altas atividades, possuem aproximadamente 75% de proteínas e 25% de lipídios.

A grande variedade de proteínas que constituem os vários tipos de membranas levam essas moléculas a desempenharem uma série de funções, como, por exemplo, o transporte de substâncias (glicose e aminoácidos) para fora e para dentro das células, a comunicação das células com o meio extracelular, o controle do transporte de íons (K^+ , Na^+ e Ca^+), a realização de atividades enzimáticas e atuam também como receptoras de sinais extracelulares, como hormônios ou neurotransmissores.

Além das funções acima citadas, a membrana também atua no controle e na manutenção da constância do meio intracelular, que é diferente do meio extracelular, nas interações célula-célula e célula-matriz extracelular. Por exemplo, é através dos componentes moleculares que constituem a membrana plasmática que células semelhantes podem se reconhecer para formar os chamados tecidos.

A **membrana plasmática** desempenha, assim, uma dupla função: primeiro, “isola” o citoplasma com o meio extracelular; da mesma forma, faz ligação entre a célula e seu meio. A membrana plasmática é a responsável pela manutenção da **integridade das células**, que é fundamental para a vida das mesmas. Portanto, a membrana plasmática é uma das principais estruturas que as células possuem.

Na membrana interna das mitocôndrias e dos cloroplastos, as proteínas, muitas das quais são enzimas, também possuem um papel muito importante nessas organelas: elas estão envolvidas na produção da energia que será utilizada pelas células para realizar uma série de atividades metabólicas necessárias a sua sobrevivência.

As proteínas também ajudam no crescimento, regeneração e substituição de diferentes tecidos e órgãos do corpo. Cada célula fabrica uma gama específica de proteínas, de acordo com suas necessidades. Portanto, as proteínas, como um todo, ocupam um papel de destaque na dinâmica e na estruturação dos organismos vivos.

Além das funções acima citadas, as proteínas também atuam como **enzimas**, que são moléculas bastante grandes e complexas. Essas enzimas agem no controle de várias funções vitais, incluindo os **processos metabólicos**. Como exemplo, temos a conversão dos nutrientes em energia e o aumento da velocidade de reação dos processos bioquímicos, tornando-os mais eficientes. Nos seres vivos como plantas, fungos, bactérias e organismos microscópicos unicelulares, pode ser encontrada uma grande quantidade de enzimas, podendo chegar de 2000 a 3000 enzimas diferentes em cada uma de suas células.

Se as enzimas estivessem ausentes, as reações químicas seriam lentas demais para dar suporte à vida.

2.4 Mobilidade das proteínas de membrana

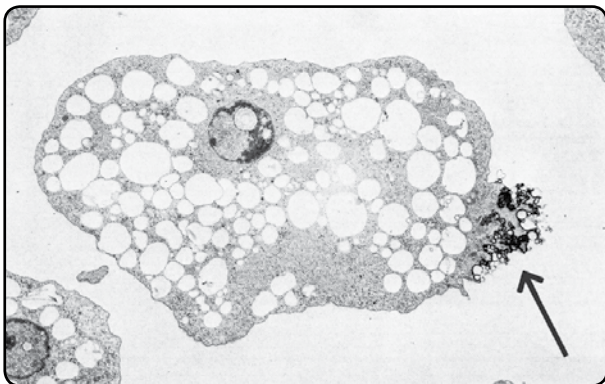


Figura 2.3 - Acúmulo dos receptores de concavalina A em um dos pólos da *Entamoeba histolytica*. Normalmente, os receptores se distribuem por toda a membrana, mas o tratamento pela concavalina A promove a migração dos receptores para uma posição polar (cap formation) (→). O material foi fixado em glutaraldeído e tratado com benzidina, revelando a peroxidase usada para marcar a concavalina A. Aumento: 3.500 X. Cortesia de A. Martinez-Palomo. (JUNQUEIRA E CARNEIRO).

Tanto as proteínas como os lipídios são capazes de difundirem-se lateralmente através da membrana. Este movimento lateral foi inicialmente demonstrado em um experimento relatado por Larry Frye e Michael Edidin em 1970, que forneceu subsídios para o modelo do mosaico fluido. Eles fusionaram células humanas com células de camundongo em cultura e produziram células híbridas de humano-camundongo (Figura 2.3). Logo após a fusão, as proteínas de humano e de camundongo estavam localizadas em duas diferentes metades das células híbridas. No entanto, após um pequeno período de incubação a 37°C, a proteína humana e de camundongo estavam completa-

mente misturadas por toda a superfície celular, indicando que elas podiam mover-se livremente através da membrana plasmática.

Contudo, nem todas as proteínas são capazes de difundirem-se livremente através da membrana. Em alguns casos, a mobilidade das proteínas de membrana fica restrita pelas suas associações com o citoesqueleto. Por exemplo, uma fração da **banda 3** na membrana de glóbulos vermelhos fica imobilizada como resultado da associação desta com a glicoforina e a espectrina. Em outros casos, a mobilidade de proteínas de membrana pode ser restrita pela associação desta com outras proteínas de membrana, ou com proteínas de superfície de células adjacentes, ou também com a matriz extracelular.

Ao contrário dos glóbulos vermelhos, as células epiteliais são polarizadas quando estão organizadas em tecidos. A membrana plasmática de várias células epiteliais é dividida em domínios diferentes, como o **domínio apical** e o **domínio basolateral**, que se diferenciam em função e composição protéica. Esses domínios são mantidos através das especializações da membrana e têm como função a formação de junções compactas entre células adjacentes do epitélio. Essas junções não apenas vedam o espaço entre as células, mas também funcionam como barreira para o movimento de lipídios e proteínas das membranas. Como resultado, as proteínas são capazes de difundirem-se através dos domínios apical ou basolateral da membrana plasmática, mas são impedidas de passar de um domínio para outro (Figura 3.8, página 80).

2.5 Lipídios de membrana

Como as proteínas, os lipídios também fazem parte da composição química da membrana plasmática. São moléculas insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Essas moléculas desempenham várias funções no organismo, como reserva de energia, componente estrutural das membranas biológicas, isolamento térmico e proteção de órgãos.

Os lipídeos presentes nas membranas celulares pertencem predominantemente ao grupo de fosfolipídeos. Estas moléculas são for-

madras pela união de três grupos de moléculas menores: um álcool, geralmente o glicerol, duas moléculas de ácidos graxos e um grupo fosfato, que pode ou não conter uma segunda molécula de álcool.

Os lipídios possuem uma região polar (**hidrofílica**) e outra região apolar (**hidrofóbica**), constituindo as chamadas **moléculas anfipáticas**. Elas atingem um estado energeticamente estável e termodinamicamente favorável, levando à formação de uma **bicamada lipídica**. Os ácidos graxos da maioria dos fosfolipídios apresentam uma ou mais ligações duplas, conferindo à membrana uma menor fluidez.

A bicamada lipídica tem como função a manutenção da estrutura das membranas e também atua como barreira entre dois compartimentos aquosos.

Entre os lipídios mais frequentes nas membranas celulares, encontram-se os **fosfolipídios** (tais como fosfatidiltreonina, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, esfingolipídios), os **glicolipídios**, os **esteróides** e o **colesterol**. Na bicamada lipídica, as extremidades polares estão em contato com a água, e as caudas, no caso as extremidades apolares, posicionam-se na parte interna das camadas. O arranjo desta bicamada é mantido por interações **não covalentes**, como a força de van der Waals e a interação hidrofóbica (Figura 2.4).

A superfície, tanto interna quanto externa, desta bicamada é polar e contém grupamentos carregados. O interior dessa camada

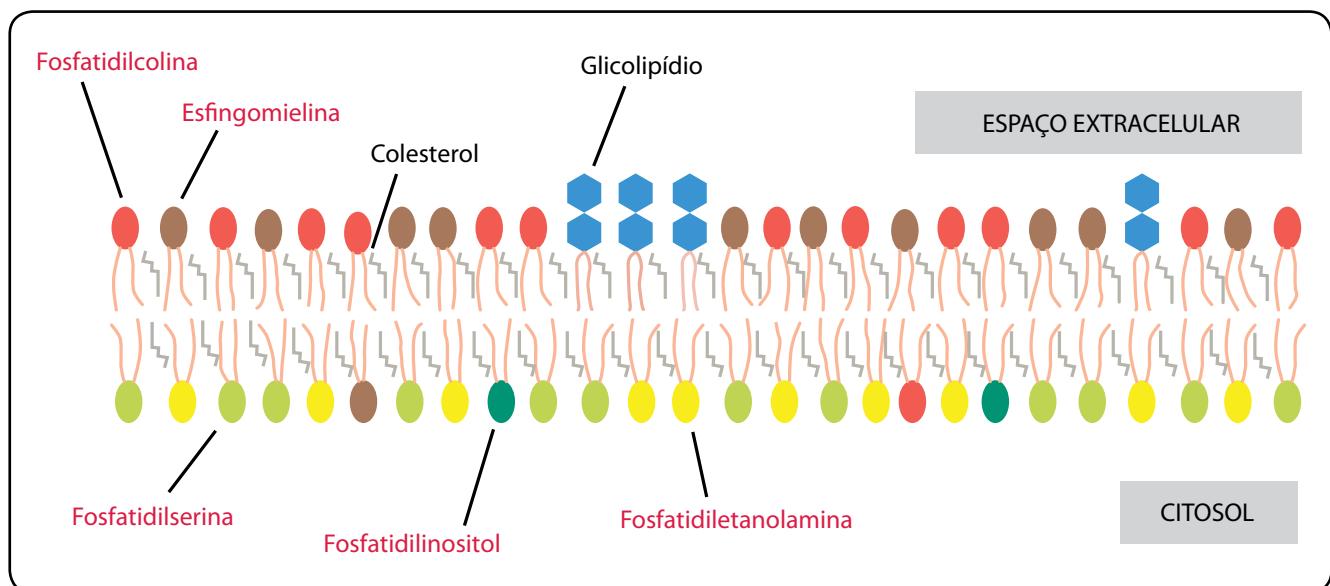


Figura 2.4 - Distribuição assimétrica de fosfolipídios e glicolipídios numa bicamada lipídica da membrana plasmática. Cinco tipos de moléculas de fosfolipídios (marcadas com letras vermelhas) são mostradas com diferentes cores. Os glicolipídios estão desenhados com os grupos da cabeça como hexágonos azuis para representar açúcares. Todas as moléculas de glicolipídios estão na monocamada externa da membrana, enquanto que o colesterol é distribuído quase igualmente em ambas as monocamadas. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 376).

consiste de **cadeias saturadas e insaturadas** de ácidos graxos e colesterol. O arranjo do interior apolar da bicamada pode ser ordenado e rígido ou desordenado e fluido. A fluidez da membrana é controlada por diversos fatores físicos e químicos, por exemplo, a incorporação de moléculas de ácidos graxos insaturados e a elevação da temperatura, que contribui para uma maior fluidez da membrana. Também a concentração de colesterol influencia na fluidez: quanto mais colesterol, menos fluida é a membrana. Os lipídios distribuem-se assimetricamente nas duas camadas e estão em constante movimentação. Eles movem-se ao longo do seu próprio eixo, num movimento chamado rotacional, e ao longo da camada. Temos também um outro movimento chamado **flip-flop**, que consiste em mudar de uma monocamada para outra, sendo este menos freqüente (Figura 2.5).

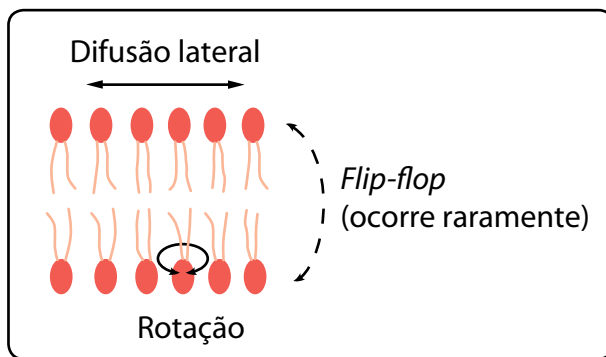


Figura 2.5 - Mobilidade de fosfolipídios. O desenho mostra três tipos de movimentos possíveis para moléculas de fosfolipídios em bicamada lipídica. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 372).

As gorduras também entram no grupo dos nutrientes fornecedores de energia. Constituem uma fonte de energia altamente concentrada e são utilizadas para acionar as reações químicas do organismo. Existem dois tipos de gorduras - as **saturadas** e as **insaturadas**. Elas se diferem na composição química e na forma como afetam seu organismo. As saturadas são encontradas em derivados do leite e em alguns produtos de origem animal. Elevam a quantidade de colesterol no sangue, o que, por sua vez, aumenta o risco de doenças coronarianas. A maior parte das gorduras vegetais fornece quantidades maiores de gorduras insaturadas. Embora

Cadeia Saturada

Descreve uma molécula que contém apenas ligações simples entre carbonos.

Cadeia Insaturada

Descreve uma molécula que contém uma ou mais ligações duplas ou triplas entre os carbonos.

o excesso seja prejudicial, alguma gordura é saudável. Pequenas quantidades de ácidos graxos, liberados de gorduras digeridas, são usadas como componentes estruturais das células. As gorduras são também valiosas no transporte das vitaminas A, D, E e K.

2.6 Hidratos de carbono de membrana

Os hidratos de carbono, também chamados **carboidratos** ou **açúcares**, são moléculas orgânicas constituídas por carbono, oxigênio e hidrogênio. São as moléculas mais abundantes na natureza e desempenham uma ampla variedade de funções, em especial, a produção de energia. Os carboidratos servem como elementos estruturais ou de reserva alimentar para as plantas e para os animais.

Eles são um grupo de substâncias químicas formadas por moléculas simples, conhecidas como **sacarídeos**; estes são combinados para formar os principais tipos de carboidratos: açúcares e amidos. Os açúcares são carboidratos simples, formados por uma ou duas moléculas de sacarídeos ligados entre si, chamados de **monossacarídeos ou de dissacarídeos**.

A superfície externa da membrana plasmática é rica em moléculas protéicas e lipídicas contendo glicídios. Essas moléculas glicídicas formam, respectivamente, as glicoproteínas e os glicolipídios que constituem o chamado glicocálice, e este é o responsável pelas chamadas interações celulares.

Outra função dos carboidratos é auxiliar na **oxidação** mais eficiente e completa de gorduras. A glicose é o principal combustível para o cérebro e a falta deste nutriente pode causar danos irreversíveis, pois é ela que irá manter a integridade funcional do tecido nervoso e também auxiliar na absorção do cálcio.

Os três monossacarídeos mais conhecidos são a glicose (cana-de-açúcar), a frutose (frutas) e a galactose (leite). A combinação de dois monossacarídeos forma o dissacarídeo. A maltose, a lactose e a sacarose são dissacarídeos.

Oxidação

É a perda de densidade de elétrons de um átomo. Ocorre durante a adição de oxigênio a uma molécula ou quando o hidrogênio é removido.

Por isso, uma dieta reduzida de carboidratos leva o organismo a usar as proteínas como fonte para produção de energia, principalmente às custas da massa muscular. Por exemplo, um atleta que se exercita mal alimentado está comprometendo sua musculatura. Portanto, a ingestão adequada de carboidrato evita que o organismo use proteína dos tecidos.

2.7 Colesterol de membrana

É uma molécula lipídica que aumenta as propriedades da bicamada lipídica e, devido a seus rígidos anéis planos de esteróides, diminui a mobilidade e torna a bicamada lipídica menos fluida. O **colesterol**, popularmente chamado de gordura do sangue, não existe nas células vegetais, apenas nas células animais. Em pequenas quantidades, é necessário para algumas funções do organismo, como para a produção de muitas substâncias importantes, incluindo alguns **hormônios** e os **ácidos biliares**. Quando em excesso, pode contribuir para a ocorrência de problemas como infarto e derrame.

Muitos são os fatores que contribuem para o aumento do colesterol, dentre eles os fatores genéticos ou hereditários, a obesidade e atividade física reduzida. Todavia, as dietas inadequadas, ricas em gorduras saturadas, sobretudo presentes nos alimentos de origem animal como óleos, leite não-desnatado e ovos, constitui, provavelmente, a principal causa.

A gordura saturada é um tipo de gordura que, quando ingerida, aumenta a quantidade de colesterol no organismo e está presente principalmente nos alimentos de origem animal. Já as gorduras insaturadas estão presentes principalmente em alimentos de origem vegetal. Elas são essenciais ao organismo, mas o corpo humano não tem condição de produzi-las e, por isso, é necessária uma dieta alimentar que possua gorduras insaturadas. A substituição de gorduras saturadas por insaturadas na dieta pode auxiliar a reduzir o colesterol no sangue. Por isso, quando quiser deixar o pão mais saboroso, deve-se preferir a margarina light ou diet à manteiga.

2.8 Arquitetura molecular de membrana

À medida que avança o conhecimento sobre a composição química, a estrutura e as funções da membrana plasmática, formulam-se modelos interpretativos da arquitetura dessas membranas.

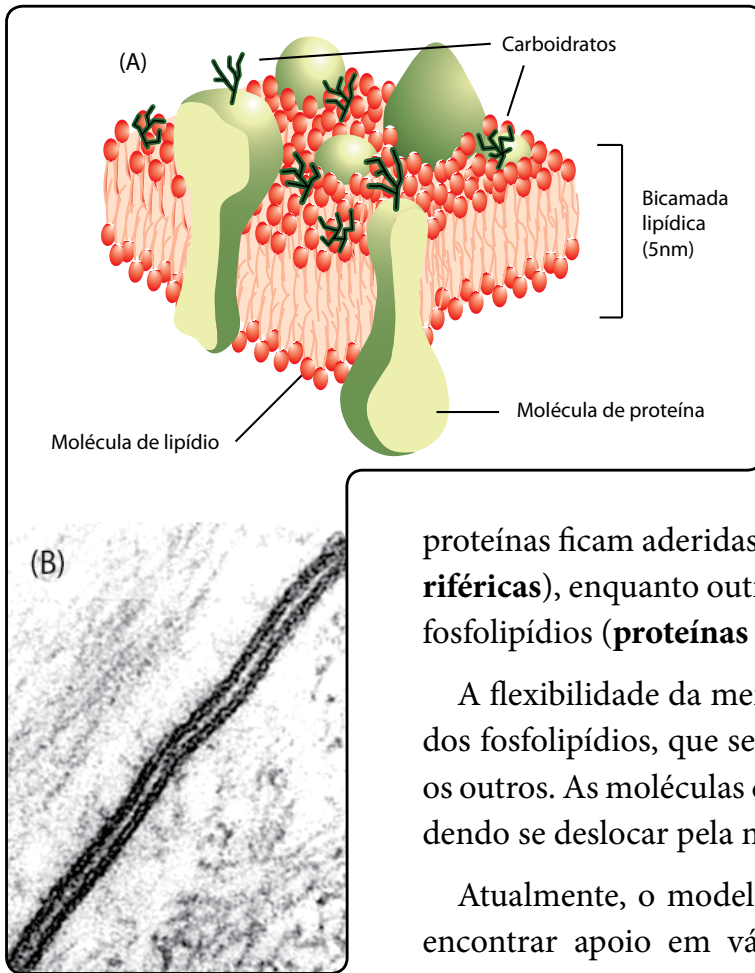


Figura 2.6 - Duas vistas de uma membrana celular. (A) Desenho esquemático mostrando uma vista tridimensional de uma membrana celular. (B) Micrografia eletrônica de uma membrana plasmática (de um retrócito humano) vista em corte transversal. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 367).

De posse dos resultados disponibilizados pela nova técnica de microscopia eletrônica, Singer e Nicholson, em 1972, propuseram um novo modelo de arquitetura molecular de membrana que ficou conhecido como **mosaico fluido** (Figura 2.6). Segundo esse modelo, a membrana seria composta por duas camadas de fosfolipídios onde estão depositadas as proteínas. Algumas dessas

proteínas ficam aderidas à superfície da membrana (**proteínas periféricas**), enquanto outras estão totalmente mergulhadas entre os fosfolipídios (**proteínas integrais**).

A flexibilidade da membrana é dada pelo movimento contínuo dos fosfolipídios, que se deslocam sem perder o contato uns com os outros. As moléculas de proteínas também têm movimento, podendo se deslocar pela membrana, sem direção.

Atualmente, o modelo do mosaico fluido é o mais aceito, por encontrar apoio em várias evidências experimentais. Nenhum modelo está pronto; a evolução das pesquisas irá melhorar o conhecimento atual.

O conhecimento da composição química, da estrutura, das propriedades e das funções das membranas celulares é essencial à compreensão dos fenômenos da vida de todos os tipos celulares. Portanto, a membrana celular, para garantir a sua autonomia, manter certa independência do meio e a composição química interna favorável aos processos vitais, necessita de duas propriedades fundamentais: a **semipermeabilidade** e a **seletividade**.

Essas duas propriedades possibilitam que a célula mantenha a composição do meio intracelular diferente da do meio extracelular. É por isso que algumas substâncias não são vistas dentro da célula, apesar da grande concentração no meio extracelular, enquanto que outras não conseguem ser eliminadas do citoplasma; e outras, ainda, ocorrem em concentrações variáveis tanto no meio intracelular como no meio extracelular.

2.9 Especializações de membrana

São modificações que a membrana plasmática das células de organismos multicelulares apresenta. Essas modificações possuem a finalidade de tornar o tecido mais compacto e, conseqüentemente, desempenhar com maior eficiência as suas funções. Muitas vezes, as células encontram-se unidas umas às outras e à matriz extracelular graças a estruturas juncionais. As membranas celulares apresentam diversos tipos de especializações e de acordo com a sua localização, podem ser classificadas em (Figura 2.7):

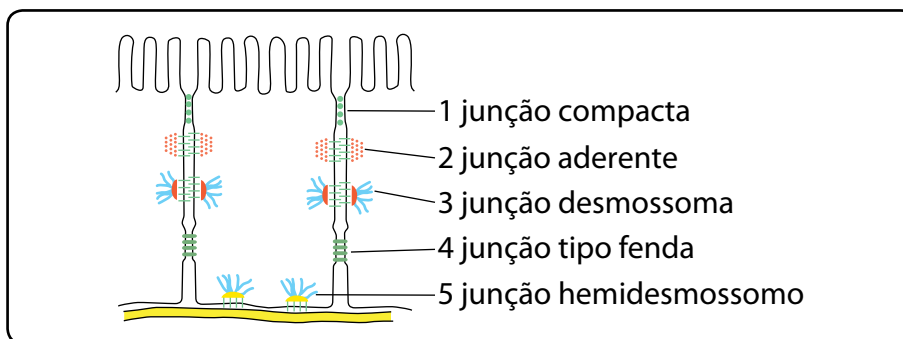
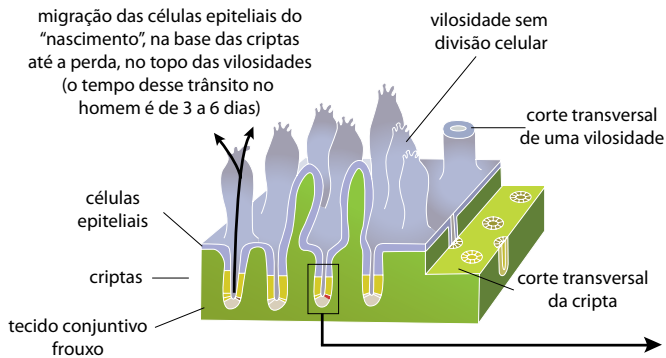


Figura 2.7 - Diagrama resumido dos principais tipos de junções celulares encontrados no epitélio de animais. Junções compactas são peculiares ao epitélio, os outros tipos também ocorrem em vários tecidos não epiteliais, com algumas modificações. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 711).

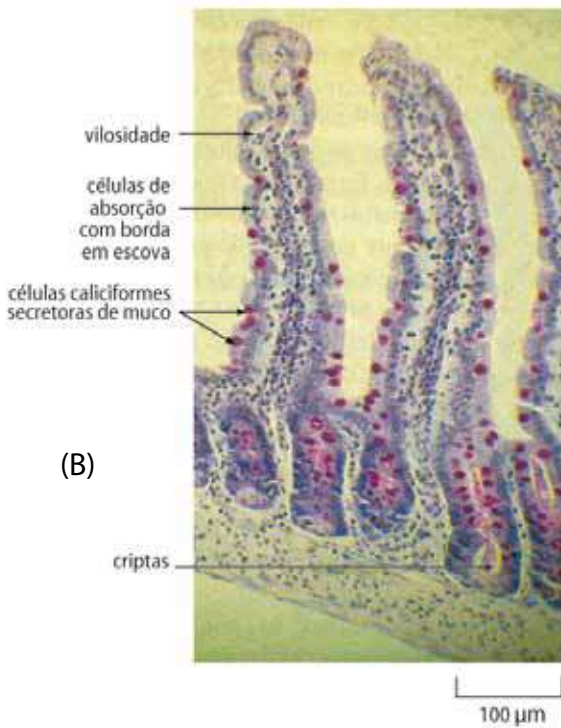
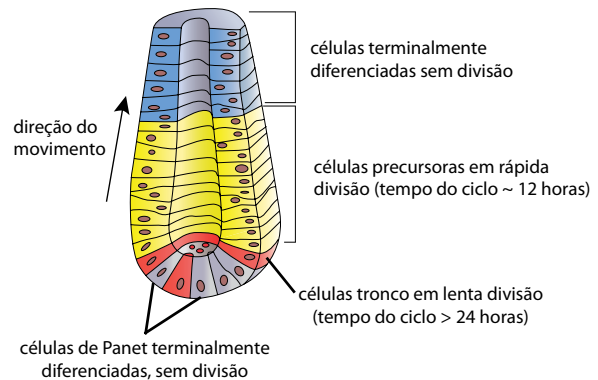
2.9.1 Superfície livre

a) Microvilos ou microvilosidades: são projeções ultramicroscópicas da membrana plasmática, em forma de dedos de luva. Apresentam comprimento de 600 a 800 nm e diâmetro de 80 nm. Ocorrem na superfície livre do epitélio de revestimento do intestino delgado, nos túbulos contornados dos rins e nas células foliculares da tireoide. Cada microvilos contém numerosos feixes de microfilamentos de actina, responsáveis pela manutenção da forma. Cada célula pode apresentar até 3000 mil microvilos. Como exemplo de microvilos, podemos citar aqueles encontrados nas células do epitélio do intestino delgado, que têm como função aumentar a área da membrana a fim de facilitar o transporte dos nutrientes da cavidade ou aumentar a luz intestinal para o interior das células (Figura 2.8).

Lúmen do Intestino



(A)



(B)

Figura 2.8 - A renovação ocorre continuamente do intestino adulto. (A) Desenho mostrando o padrão de renovação celular e a proliferação das células tronco do epitélio que forma o revestimento do intestino delgado. As células diferenciadas que não estão em divisão na base das criptas também possuem um tempo de vida finito, finalizado pela morte celular programada, e estão sendo constantemente substituídas pelas progênie das células-tronco. (B) Fotografia de uma secção de parte do revestimento do intestino delgado mostrando as vilosidades e as criptas. Observe como as células caliciformes secretoras de muco (coradas em *vermelho*) estão entremeadas entre as células de absorção com borda em escova do epitélio da vilosidade. Um pequeno número de outros dois tipos celulares, as células endócrinas (não-mostrado), as quais secretam os hormônios intestinais e as células de Panet, que secretam proteínas bactericidas, também estão presentes e derivam das mesmas células-tronco. A organização das vilosidades e criptas é mantida por sinais do ambiente das criptas que mantêm as células das criptas em proliferação. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 722)

b) Glicocálice/glicocálix (glico = açúcar; calix = envoltório): é um envoltório externo à membrana que aparece nas células animais e em alguns protozoários. É composto de moléculas de açúcares ligadas às proteínas e aos lipídios, formando, respectivamente, as **glicoproteínas** e os **glicolipídios**. O glicocálice não é uma característica exclusiva dos epitélios, ocorrendo também em células de tecidos, como o nervoso. Nestes tecidos, o glico-

cálice auxilia na adesão das células, constituindo um cimento flexível. São inúmeras as funções que o glicocálice desempenha nas células, como, por exemplo: proteger a célula contra danos mecânicos ou químicos; criar um microambiente celular, isto é, atuar como uma barreira de difusão; filtrar material que entra e sai das células; reconhecer substâncias; suspender os processos mitóticos e atuar como antigênico, tomando parte no estímulo que leva à formação de anticorpos que promovem a rejeição de enxertos, responsáveis pelos tipos sanguíneos (A, B, AB e O).

O glicocálice que reveste os microvilos das células absorventes do intestino contém enzimas que promovem a etapa final da digestão de glicídios e proteínas, e também facilita a absorção de alimentos. Se tais proteínas forem perdidas ou modificadas, como acontece em alguns tumores malignos, mesmo o glicocálice ainda existindo, esta função será comprometida. Portanto, o glicocálice de diferentes tipos celulares apresenta diferentes moléculas de superfície, diferentes números, tipos e posição de açúcares de su-

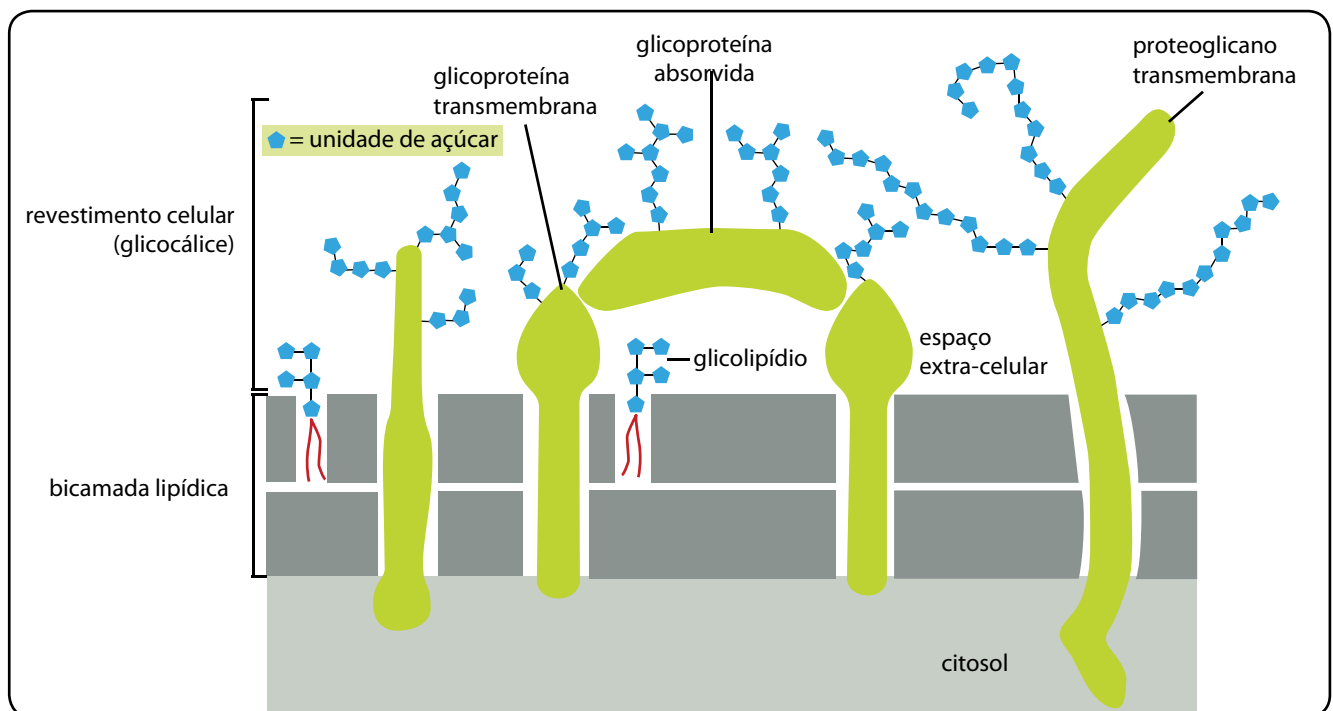


Figura 2.9 - Diagrama simplificado do glicocálice de uma célula eucariótica. O glicocálice é composto pelas três cadeias laterais de oligossacarídeos ligadas a glicolipídios e glicoproteínas da membrana, bem como pelas cadeias laterais de polissacarídeos dos proteoglicanos da membrana. Glicoproteínas e proteoglicanos que foram secretados pela célula e depois absorvidos sobre sua superfície também podem contribuir para o glicocálice. Observe que todo carboidrato está na superfície extracelular (não-citosólica) da membrana plasmática. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 382).

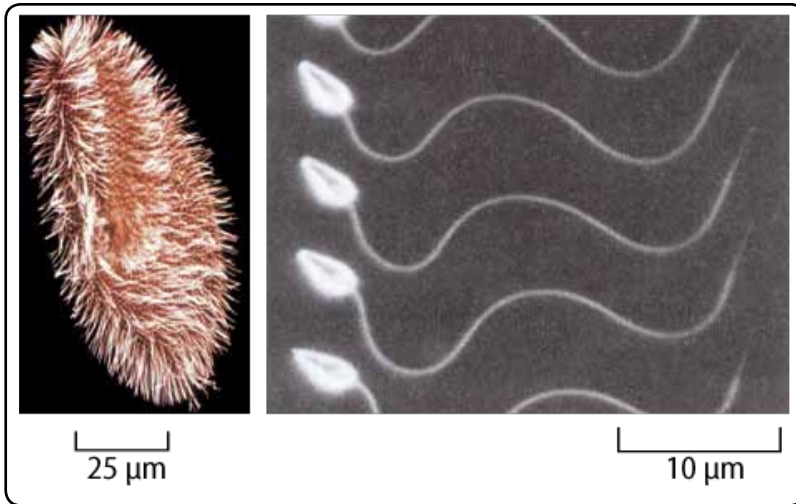


Figura 2.10 - Exemplos de cílios e flagelos. (A) Micrografia eletrônica de varredura mostrando numerosos cílios cobrindo a superfície de um *Paramecium*. (B) Fotografia em iluminação estroboscópica (500 cintilações por segundo) do movimento do flagelo de um espermatozoide de ouriço-do-mar exibindo movimento ondulatório. (COOPER, p. 483).

perfície e, como consequência, diferentes códigos moleculares, resultando em diferentes identidades de superfície. Com isso podemos dizer que o glicocálice é a “impressão digital” das células (Figura 2.9).

c) Cílios e flagelos: são estruturas microtubulares que se projetam para o meio extracelular de certas células de invertebrados, de protistas e de organismos superiores.

Originam-se do alongamento de nove microtúbulos dos centríolos. É comum fazer-se a distinção entre cílios e flagelos pelo número e pela dimensão dos mesmos. Os cílios são curtos e numerosos, enquanto os flagelos são longos e em pequeno número. Ambos possuem participação nos movimentos celulares. Ex.: protozoários ciliados (paramecium), espermatozoides, bactérias e etc. (Figura 2.10).

d) Estereocílios: são expansões longas e filiformes da superfície livre de certas células epiteliais, que podem ou não se anastomosar.

Não têm a estrutura nem a capacidade de movimento dos cílios verdadeiros. São semelhantes aos microvilos, porém possuem maior comprimento e se ramificam freqüentemente. Os estereocílios são encontrados nas células epiteliais de revestimento do epidídimo, do canal deferente, no aparelho genital masculino e no ouvido interno. Os estereocílios aumentam muito a superfície de contato das células, facilitando o transporte de água e outras moléculas (Figura 2.11).

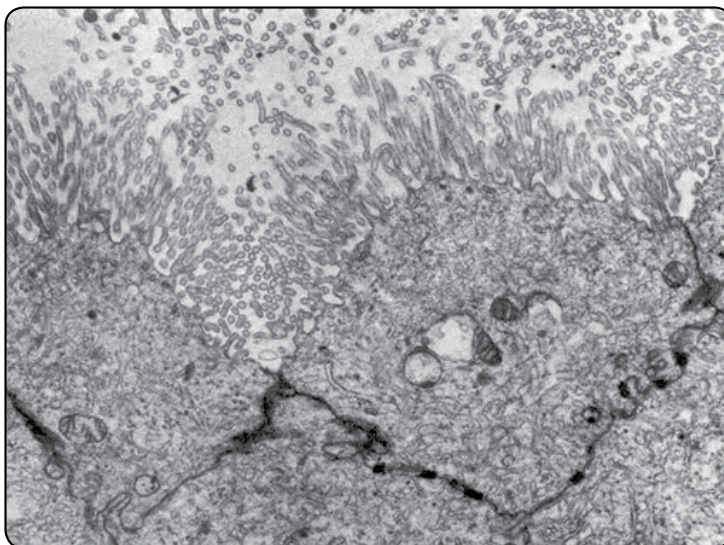


Figura 2.11 - Estereocílios. Células do epidídimo. Note que os estereocílios são flexuosos e, por isso, aparecem principalmente em cortes oblíquos. Eletromicrografias. Aumento: 12.000 X. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, p. 94).

2.9.2 Superfície de contato

1) Lateral

Complexo juncional: são estruturas como **zônula de oclusão**, **zônula adherens** e **desmossomos**, que asseguram a junção celular, a vedação do espaço intercelular e a comunicação entre células. São freqüentes em células do epitélio colunar simples da parede intestinal (Figura 2.12).

Regiões Características:

- a) **Zônula de Oclusão (*Zonula Occludens*):** é um cinturão contínuo que se forma em torno da zona apical de células do epitélio de revestimento do intestino delgado e que tem como função principal a vedação completa entre as células. É formada principalmente por proteínas do tipo transmembrana chamadas de **claudinas** e **occludinas**, que, juntamente com proteínas periféricas da membrana intracelular, associam-se aos microfilamentos de actina (através de moléculas de sinalização intracelular) do citoesqueleto. No intestino, atua como uma barreira contra a difusão de algumas proteínas de membrana e lipídeos entre os domínios apicais e basolaterais da membrana plasmática (transporte transcelular). Constitui, também, as células vizinhas para impedir a passagem de proteínas marcadoras de baixo peso molecular. Essa junção pode ser modificada temporariamente para aumentar o fluxo de solutos (aminoácidos e monossacarídeos) e água através de suas aberturas (transporte para célula).

As junções septadas atuam nos invertebrados, formando um cinturão contínuo ao redor de cada célula epitelial, onde as membranas plasmáticas que interagem são ligadas por proteínas organizadas paralelamente com uma periodicidade regular. As junções de ancoramento formam uma estrutura que liga o citoesqueleto de uma célula ao de outra célula. São muito abundantes em tecidos que sofrem estresse mecânico, como o tecido cardíaco e a epiderme. A zônula de oclusão é composta principalmente de proteínas de ancoramento intracelulares e proteínas de adesão transmembrana, mas muitas junções possuem proteínas sinalizadoras intracelulares (Figura 2.13).

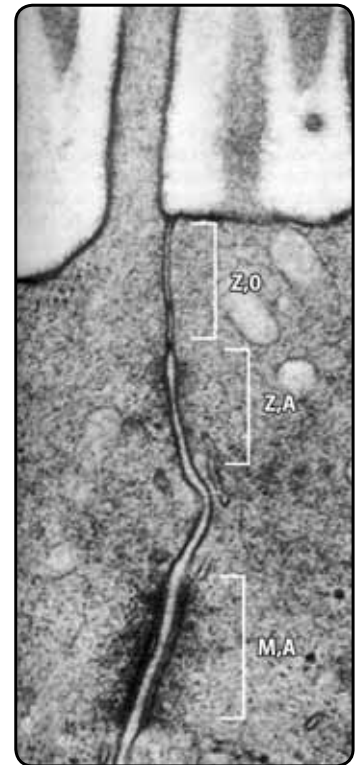


Figura 2.12 - Eletromicrografia do complexo juncional. ZO, zonula occludens; ZA, zonula adherens; MA, ou D, macula adherens ou desmossomo. Aumento: 80.000 X. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, p. 99).

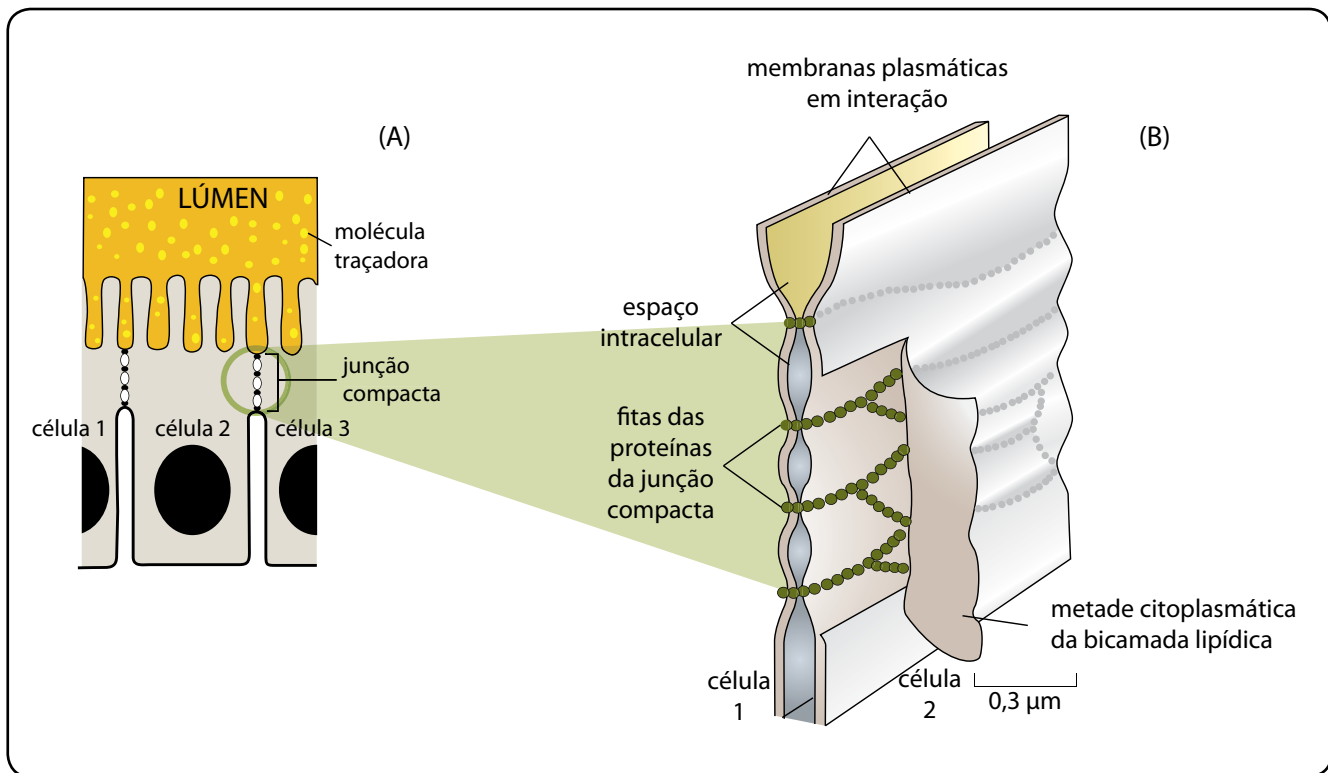


Figura 2.13 - As junções tipo compacta permitem que as camadas celulares atuem como barreiras à difusão dos solutos. (A) Desenho esquemático mostrando como uma pequena molécula traçada extracelular adicionada em um lado da camada celular epitelial não pode atravessar as junções compactas que selam as células adjacentes. (B) Um modelo da estrutura da junção ocludente, mostrando como as células são seladas por proteínas denominadas claudinas e ocludinas (verde) na porção externa da bicamada da membrana plasmática. (Ilustração baseada em Daniel Friend/ ALBERTS et al., p. 712).

b) **Zônula de Adesão (*Zonula Adherens*)**: sua estrutura é semelhante à dos desmossomos, porém a zônula de adesão forma um cinturão contínuo que circunda toda a célula. É formada por proteínas de adesão transmembrana da família das **caderinas** e conecta os **filamentos de actina** entre as células. A função principal da zônula de adesão é a de proporcionar a **coesão** entre as células, tornando a camada epitelial mais resistente a atrito, trações e pressões. Além disso, participa do estabelecimento e manutenção da polaridade celular em associação com a zônula de oclusão (Figura 2.14).

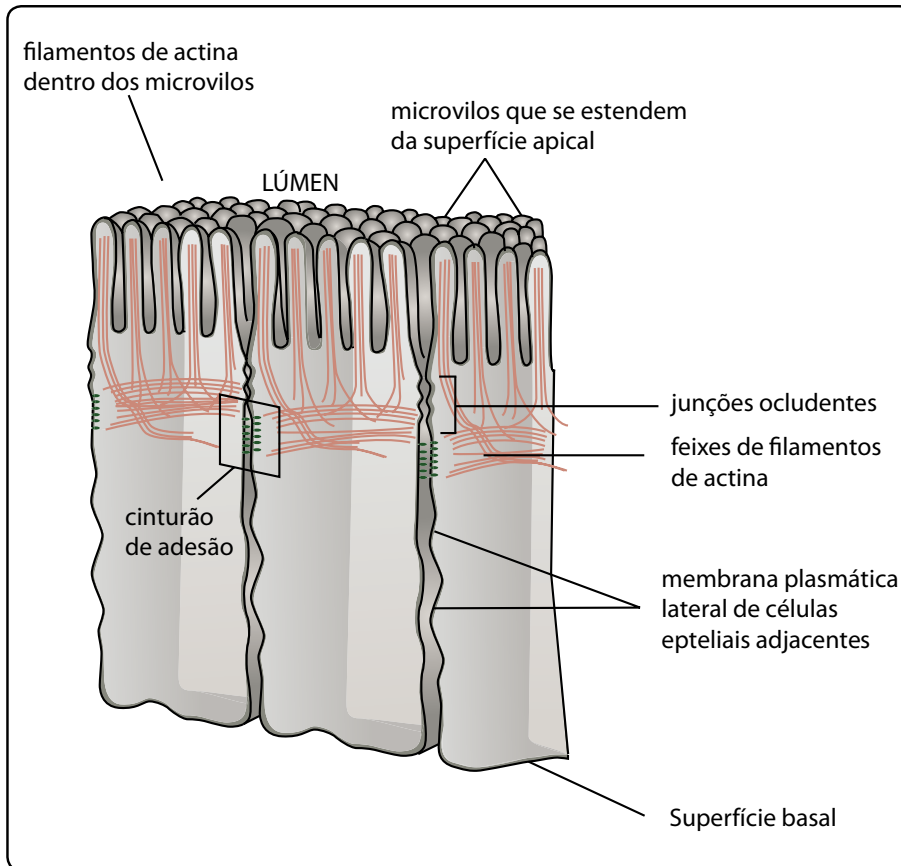


Figura 2.14 - As junções aderentes formam cinturões de adesão ao redor das células epiteliais no intestino liso. Um feixe contrátil de filamentos de actina estende-se ao longo da superfície citoplasmática da membrana plasmática próxima ao ápice de cada célula, e esses feixes de filamentos de actina das células adjacentes estão ligados uns aos outros por moléculas de caderinas que se estendem na membrana celular. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 713).

c) **Desmossomos (*Macula Adherens*)**: têm a forma de uma placa arredondada e são constituídos pelas membranas de duas células vizinhas, cuja função principal é unir fortemente as células uma às outras e à matriz extracelular. Eles formam uma ponte entre duas células vizinhas, por onde se conectam os filamentos intermediários de queratina nas células epiteliais e **vimentina** nas células musculares, formando uma estrutura de grande força tensora. Sua estrutura é composta por várias proteínas de ancoramento intracelular, como as **placoglobinas** e as **desmoplaquinas**, que são responsáveis pela conexão ao citoesqueleto e às proteínas de adesão transmembrana, como as **desmogleina** e as **desmocolina**, que pertencem à família das **caderinas** (Figura 2.15).

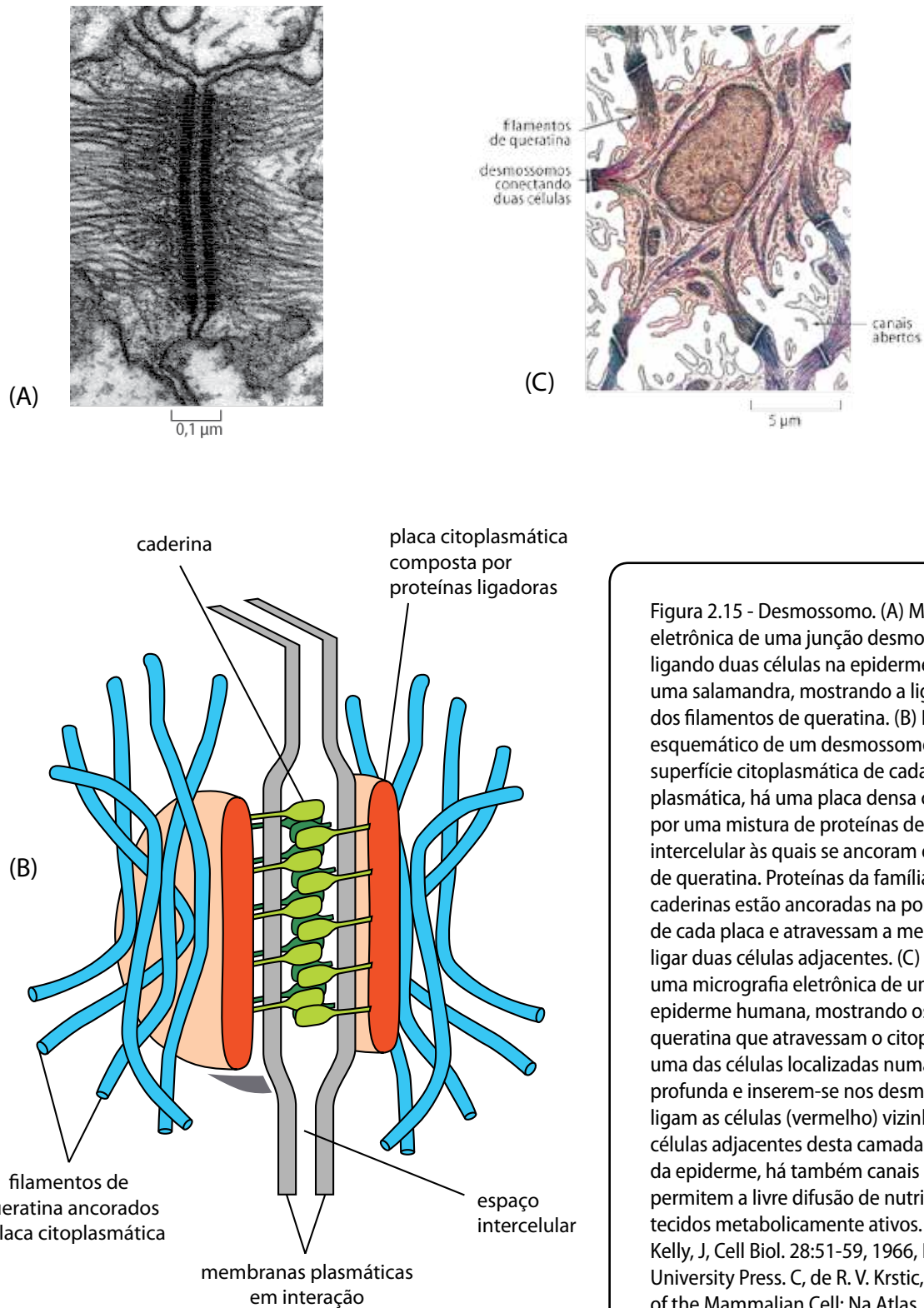


Figura 2.15 - Desmossomo. (A) Micrografia eletrônica de uma junção desmossômica ligando duas células na epiderme de uma salamandra, mostrando a ligação dos filamentos de queratina. (B) Desenho esquemático de um desmossomo. Na superfície citoplasmática de cada membrana plasmática, há uma placa densa composta por uma mistura de proteínas de ligação intercelular às quais se ancoram os filamentos de queratina. Proteínas da família das caderinas estão ancoradas na porção externa de cada placa e atravessam a membrana para ligar duas células adjacentes. (C) Desenho de uma micrografia eletrônica de um corte de epiderme humana, mostrando os feixes de queratina que atravessam o citoplasma de uma das células localizadas numa região mais profunda e inserem-se nos desmossomos que ligam as células (vermelho) vizinhas. Entre as células adjacentes desta camada profunda da epiderme, há também canais abertos que permitem a livre difusão de nutrientes em tecidos metabolicamente ativos. (A. de D.E. Kelly, J. Cell Biol. 28:51-59, 1966, Rockefeller University Press. C, de R. V. Krstic, Ultrastructure of the Mammalian Cell: Na Atlas, Berlin: Springer, 1979. ALBERTS et al., p. 715).

Os desmossomos estão relacionados à forma e ao padrão de distribuição das organelas na célula. Conferem resistência à tração e à pressão. A capacidade dos desmossomos para prender as células vizinhas depende da presença de caderinas, proteínas transmembrana que exibem adesividade na presença de íons Ca^{2+} . Por isso, o desmossomo só tem poder de fixar as células quando a concentração de cálcio no espaço extracelular é normal.

d) **Interdigitações:** são encaixes intercelulares, freqüentes em células de tecidos compactos (epitélios) e que têm como função aumentar a **coesão celular** (Figura 2.16).

e) **Junção Comunicante (nexos ou gap junction):** trata-se de uma estrutura de forma cilíndrica para estabelecer comunicação entre as células. Cada junção, geralmente circular, é constituída por um conjunto de tubos protéicos paralelos que atravessam as membranas de duas células. Cada tubo é formado pela posição de dois tubos menores, os **conexons**, pertencentes a cada uma das células vizinhas. O diâmetro do tubo é de 7 nm e seu poro ou canal hidrófilo é da ordem de 1,0 a 1,4 nm, o que permite a passagem

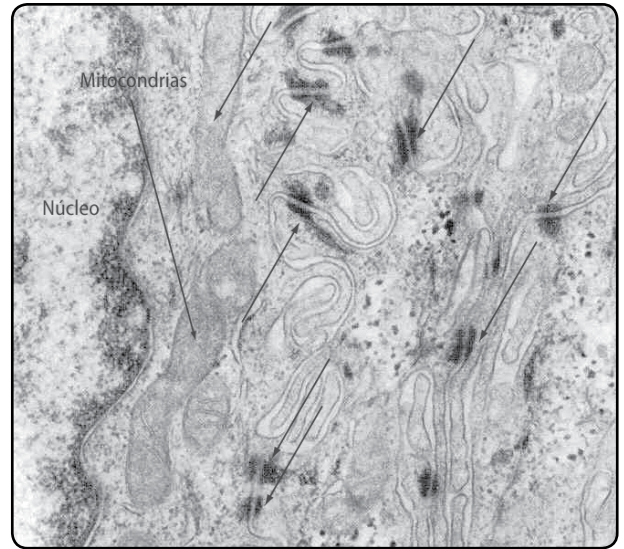


Figura 2.16 - Eletromicrografia de interdigitações que prendem as células da epiderme umas às outras. Aparecem também numerosos desmossomos (setas). Aumento: 36000 X. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 96).

O conexon é constituído por 6 unidades protéicas.

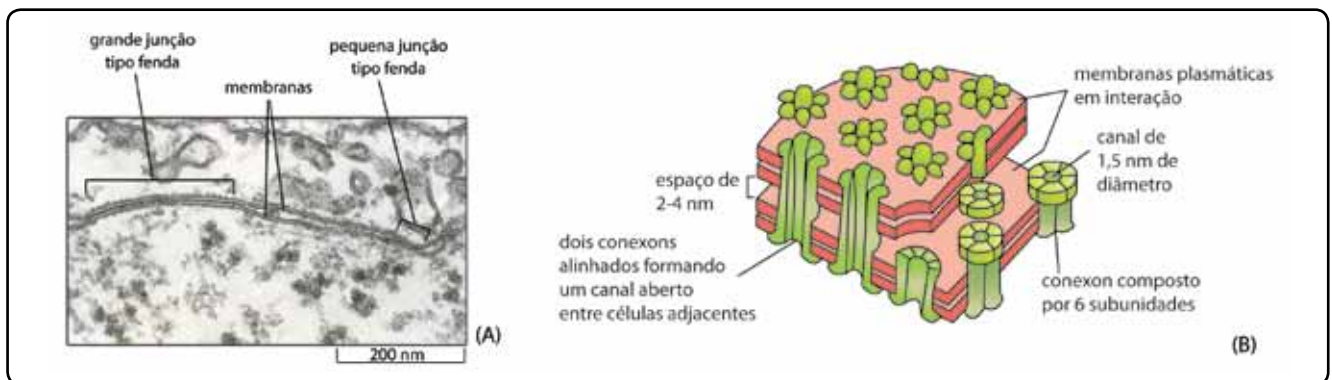


Figura 2.17 - As junções tipo fenda proporcionam uma comunicação direta entre duas células. (A) Micrografia eletrônica de camada delgada de uma junção tipo fenda entre duas células em cultura. (B) Modo de uma junção tipo fenda. O desenho mostra a interação das membranas plasmáticas de duas células adjacentes. As bicamadas lipídicas opostas (vermelho) são penetradas por proteínas agrupadas denominadas conexons (verde), cada uma delas é formada por seis subunidades idênticas de proteínas. Dois conexons se ligam através do espaço intercelular formando um canal aquoso que conecta as duas células. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 716).

de moléculas de até 1200 daltons (Figura 2.17). Como exemplo, podemos citar aminoácidos e íons. Macromoléculas, porém, não conseguem atravessar as conexões. As funções dessas junções são o estabelecimento de canais de comunicação entre as células e a adesão.

2) Basal

Embora os limites celulares sejam definidos pela membrana plasmática, várias células são circundadas por um arranjo insolúvel de macromoléculas secretoras. Células de bactérias, fungos, algas e plantas superiores são circundadas por paredes celulares rígidas, que constituem uma parte integral da célula. Apesar de as células animais não serem revestidas por paredes celulares, elas encontram-se intimamente associadas nos tecidos com uma matriz extracelular composta por proteínas e polissacarídeos. A **matriz extracelular** ocupa os espaços entre as células, interligando-as e mantendo-as unidas nos tecidos. Essa matriz, além de fornecer um suporte estrutural para as células e os tecidos, também desempenha importantes funções na regulação do comportamento das células em organismos multicelulares.

a) **Hemi-desmossoma (meio-desmossomo)**: assemelha-se morfológicamente aos desmossomos. Atua como “rebites” que distribuem as forças tensoras pelo epitélio. Em vez de ligar células

epiteliais adjacentes, os hemidesmossomos conectam a superfície basal de uma célula epitelial à lâmina basal adjacente. São responsáveis pela adesão do tecido epitelial ao tecido conjuntivo subjacente. Os domínios extracelulares das **integrinas**, que medeiam a adesão, ligam-se a uma proteína **laminina** na **lâmina basal**, enquanto que os domínios intracelulares ligam-se aos filamentos intermediários de **queratina** por meio de uma proteína de

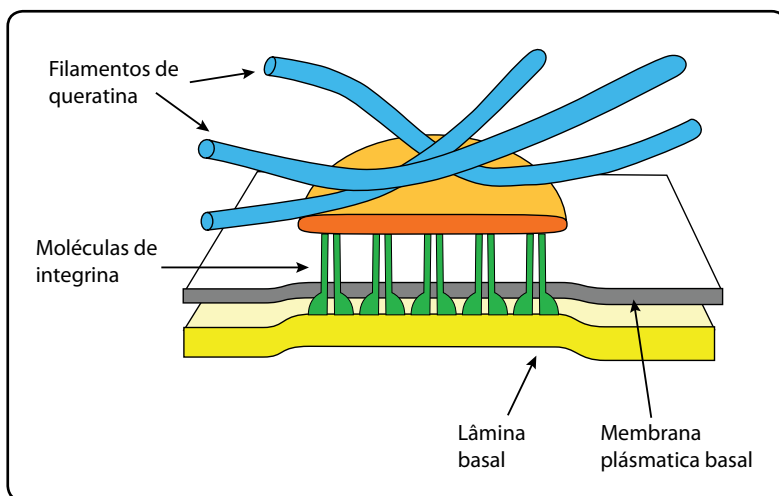


Figura 2.18 - Junção hemidesmossomo ancora os filamentos de queratina de uma célula epitelial à lâmina basal. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 715).

ancoramento (**plectina**). Os filamentos de queratina associam-se aos desmossomos por ligações laterais às placas desmossômicas (Figura 2.18). Por outro lado, os filamentos de queratina associados com os hemidesmossomos têm suas extremidades imersas na placa. A estrutura intracelular dos hemidesmossomos é semelhante a dos desmossomos, mas as proteínas transmembranares que ligam a célula às proteínas que formam a lâmina basal são as integrinas α_6 e β_4 , e não as **caderinas**, que ocorrem entre célula-célula.

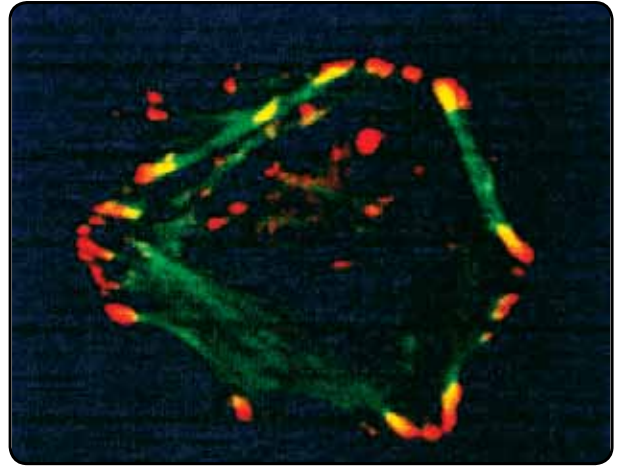


Figura 2.19 - Imunolocalização das junções de **adesão focal** em fibroblastos em cultura. Os fibroblastos foram incubados com anticorpos anti-actina (em verde) e anti-talina (em vermelho) para localização das fibras de estresse e da junção adesão focal, respectivamente. (CARVALHO-RECCO-PIMENTEL, p. 68).

- b) **Adesões focais:** são feixes de filamentos de actina que estão ancorados à subunidade β da maioria das **integrinas** via associações com uma série de outras proteínas, incluindo **α -actina**, **talina** e **vinculina**. As proteínas da família das integrinas, que proporcionam adesão célula-matriz extracelular, ligam-se aos filamentos de actina intracelulares. Assim, torna-se possível às células musculares ligarem-se aos seus **tendões**.
- c) **Pregas basais:** são reentrâncias e saliências provenientes da invaginação da membrana em contato com a lâmina basal. Sua função é promover a adesão das células epiteliais à lâmina basal.

2.10 Transporte de solutos através da membrana

Além de manter a integridade da célula, a membrana plasmática é a responsável pela seleção dos nutrientes necessários para **biossíntese** e **produção de energia**.

A membrana plasmática possui, em sua estrutura, proteínas específicas que reconhecem e carregam para dentro da célula solutos como açúcares, aminoácidos e íons inorgânicos. Estes sistemas de transporte são importantes para regular o volume da célula, manter a composição iônica e o pH do meio intracelular, captar nutrientes e compostos biologicamente importantes, eliminar produtos finais

do metabolismo para o meio extracelular e gerar gradientes iônicos essenciais à função das células.

Para a maioria das substâncias, existe uma relação entre sua solubilidade nos lipídios e sua capacidade de penetrar nas células. De modo geral, os compostos **hidrofóbicos**, solúveis nos lipídios, como os ácidos graxos, hormônios **esteróides** e **anestésicos**, atravessam facilmente a membrana. Já as substâncias hidrofílicas, insolúveis nos lipídios, penetram nas células com mais dificuldade. Essa maior ou menor dificuldade de penetrar na célula não só vai depender do tamanho da molécula, mas também de sua característica química.

Os principais mecanismos de passagem de substâncias através da membrana plasmática são: transporte de pequenas moléculas (**transporte passivo, ativo e facilitado**); ou transporte em massa (**fagocitose e pinocitose**).

A questão mais importante sobre o transporte de substâncias através de membranas biológicas é se o processo requer ou não gasto energético por parte da célula. Desta forma, os sistemas de transporte podem ser classificados em:

2.10.1 Transporte de pequenas moléculas

a) **Transporte passivo não mediado (difusão simples):** É o movimento de uma substância de uma região de alta para uma de baixa concentração, isto é, a favor do gradiente de concentração do soluto. Não há consumo de energia, e pode ocorrer tanto através das proteínas como também através da dupla camada lipídica. A velocidade do transporte é diretamente proporcional à concentração do soluto a ser transportado, à área envolvida no processo e à temperatura. É inversamente proporcional à distância a ser percorrida e ao diâmetro da partícula. Como exemplo, temos o transporte do O_2 , CO_2 , N_2 , água e substâncias lipossolúveis, que podem passar diretamente pela membrana. Já moléculas maiores, principalmente as polares, requerem uma proteína de canal.

Fatores como a diferença de concentração, a diferença de pressão hidrostática ou o potencial elétrico podem impulsionar estes processos não mediados (Figura 2.20).

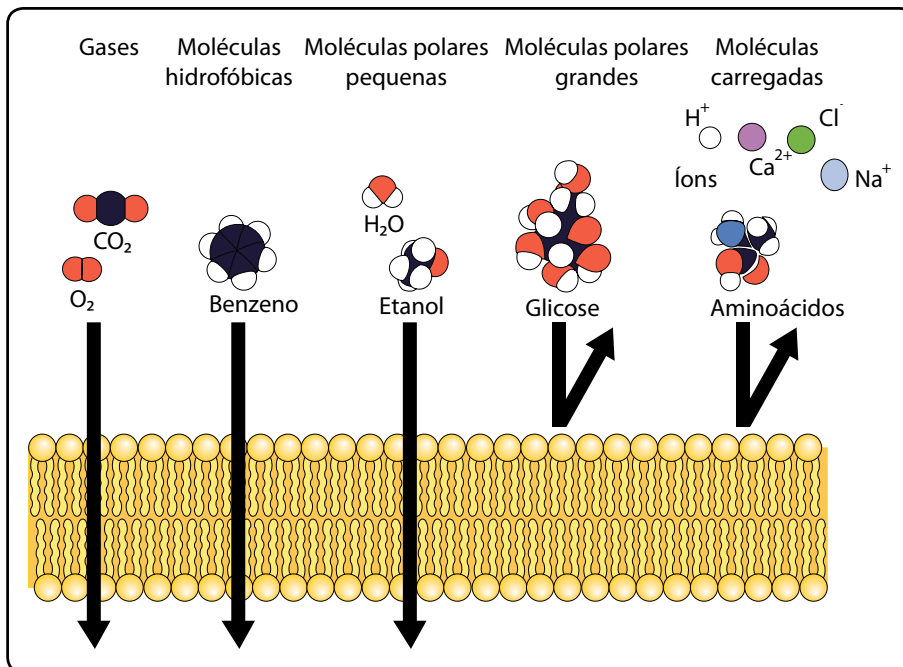


Figura 2.20 - Permeabilidade das bicamadas fosfolipídicas. Gases, moléculas hidrofóbicas e moléculas polares pequenas não-carregadas podem difundir-se através das bicamadas fosfolipídicas. Moléculas polares maiores e moléculas carregadas não podem. (Ilustração baseada em COOPER, p. 502).

b) **Transporte passivo mediado (difusão facilitada):** É o movimento de uma substância de uma região de alta concentração para uma de baixa concentração, como ocorre no **transporte passivo não mediado**. Neste tipo de transporte, a molécula a ser transportada através da membrana liga-se a uma proteína carreadora, em vez de passar através da proteína, como na difusão simples. A passagem pela membrana de solutos e íons é possível devido a proteínas de membrana que diminuem a energia de ativação necessária para o transporte. As proteínas que realizam esta função são chamadas de transportadoras ou **permeases**. Uma das características deste transporte é a ligação do transportador à molécula a ser transportada. É um exemplo de difusão facilitada o transporte da água e da glicose. A água, apesar de sua natureza polar, pode atravessar as membranas biológicas por difusão simples, devido à sua alta concentração.

Entretanto, nos tecidos em que há necessidade do movimento rápido da água, como nos eritrócitos e nas células tubulares renais, a água se difunde através das proteínas **aquaporinas** da membrana plasmática.

As aquaporinas são moléculas que pertencem a uma família de proteínas integrais que formam canais para o transporte rápido de água.

Transportadores de
glutamato.

A glicose é uma molécula fundamental para o metabolismo energético das células. É hidrossolúvel e, por isso, sua passagem pela membrana e conseqüente entrada na célula por difusão é muito lenta e incompatível com as necessidades de glicose para gerar energia. Existem cinco tipos já identificados de transportadores de glicose, conhecidos por **GLUTs**, com peso molecular de 50 a 60 kDa. Como exemplo, temos **GLUT 1**, que é encontrado nas hemáceas, músculos e cérebro. Já o **GLUT 2** é encontrado no fígado, células das ilhotas pancreáticas, renais e intestinais. O tipo **GLUT 3** é encontrado no músculo esquelético fetal, enquanto que as células musculares e o tecido adiposo possuem o transportador **GLUT 4** e a membrana apical das células intestinais possui a proteína do tipo **GLUT 5**. Apesar da semelhança existente entre as seqüências de aminoácidos e a conformação entre essas proteínas, o modo de transporte e os cofatores alostéricos dessas enzimas é que vão fazer com que essas proteínas atuem de modo diferenciado nos diferentes tipos celulares (Figura 2.21).

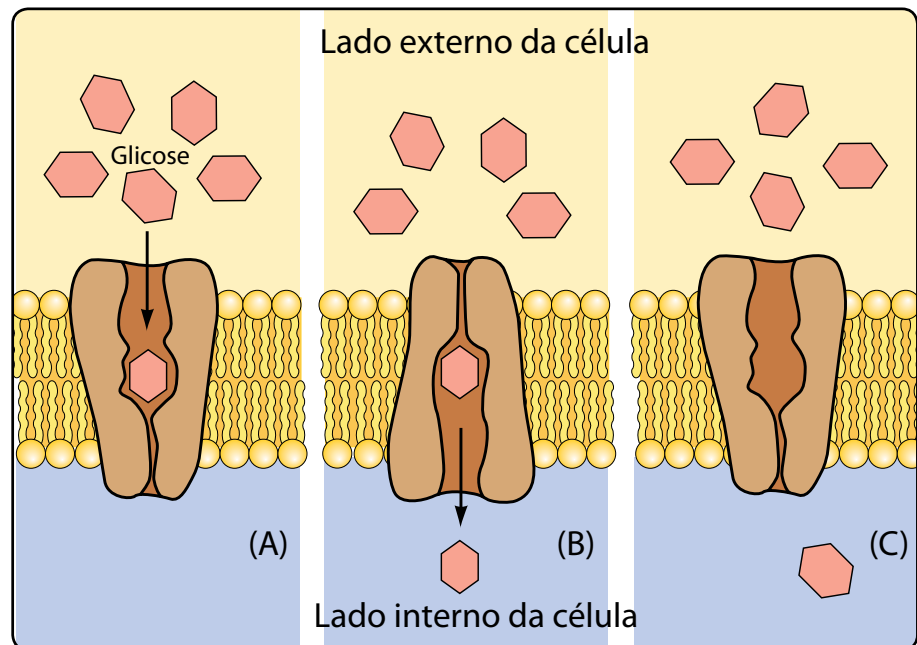


Figura 2.21 - Modelo para a difusão facilitada da glicose. O transportador de glicose altera-se entre duas conformações nas quais o sítio de ligação da glicose é alternativamente exposto do lado de fora e do lado de dentro da célula. Na primeira conformação ilustrada (A), a glicose liga-se ao sítio exposto ao lado de fora da membrana plasmática. O transportador então passa por uma mudança conformativa de maneira que o sítio de ligação para a glicose passe a ficar voltado para o lado de dentro da célula e a glicose é liberada no citosol (B). O transportador então retorna à sua conformação original (C). (Ilustração baseada em COOPER, p. 503).

- c) **Osmose:** É um transporte passivo que ocorre a favor do gradiente de concentração e pode se dar tanto pelas proteínas quanto pela porção lipídica da membrana. A água movimentase sempre de um meio **hipotônico** (menos concentrado em soluto) para um meio **hipertônico** (mais concentrado em soluto), com objetivo de atingir a mesma concentração em ambos os meios (isotônicos), através de uma membrana semipermeável (Figura 2.22).
- d) **Transporte ativo:** É o movimento de uma substância de uma região de baixa para uma de alta concentração, isto é, contra o gradiente de concentração do soluto. Há consumo de energia, e pode ocorrer tanto através das proteínas como também através da dupla camada lipídica. Como exemplo, temos a bomba de sódio e potássio, que utiliza a energia para o transporte desses íons, da molécula de ATP, enquanto que para o transporte de glicose no epitélio de revestimento do intestino, a energia utilizada é proveniente do gradiente de sódio disponível na luz do tubo do intestino (Figura 2.23).
- e) **Canais iônicos:** São formados por proteínas integrais da membrana plasmática das células. Por possuírem uma estrutura tridimensional, formam canais de passagem ou de saída de determinados íons através da membrana. Como os íons possuem

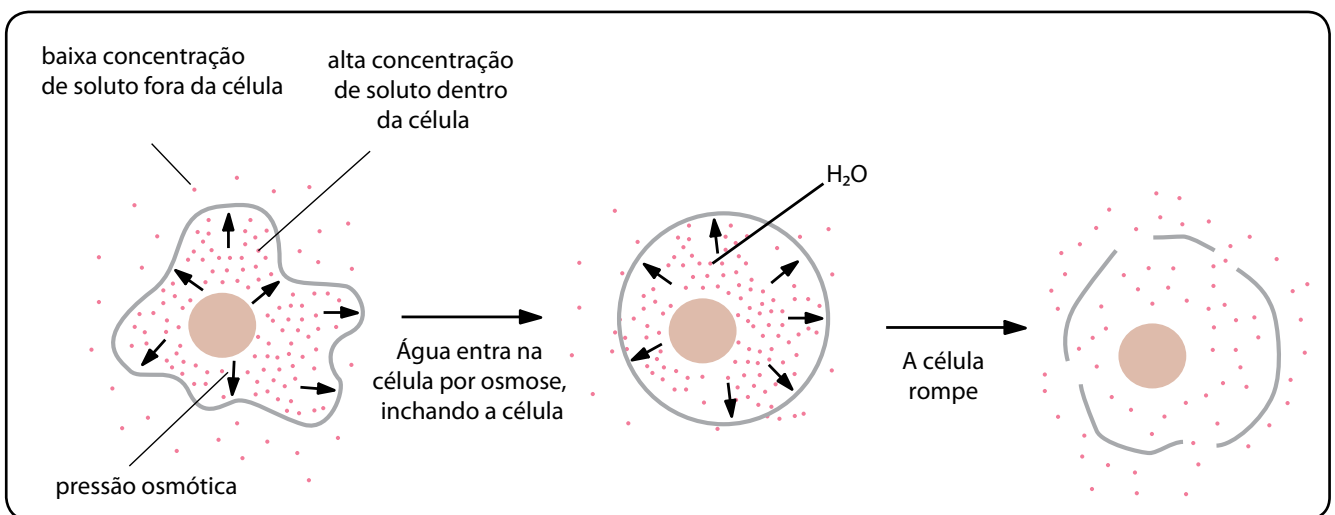


Figura 2.22 - A difusão da água é conhecida como osmose. Se a concentração de soluções dentro de uma célula é maior do que aquela no exterior, a água se move por osmose, causando a dilatação da célula. Se a diferença em concentração de solutos é grande o suficiente, a célula se rompe. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 400).

carga elétrica, eles não conseguem passar pelas membranas. Este tipo de transporte não requer energia. Como exemplo, temos canal de Ca^{2+} no REL, canal de Na^+ e canal de K^+ .

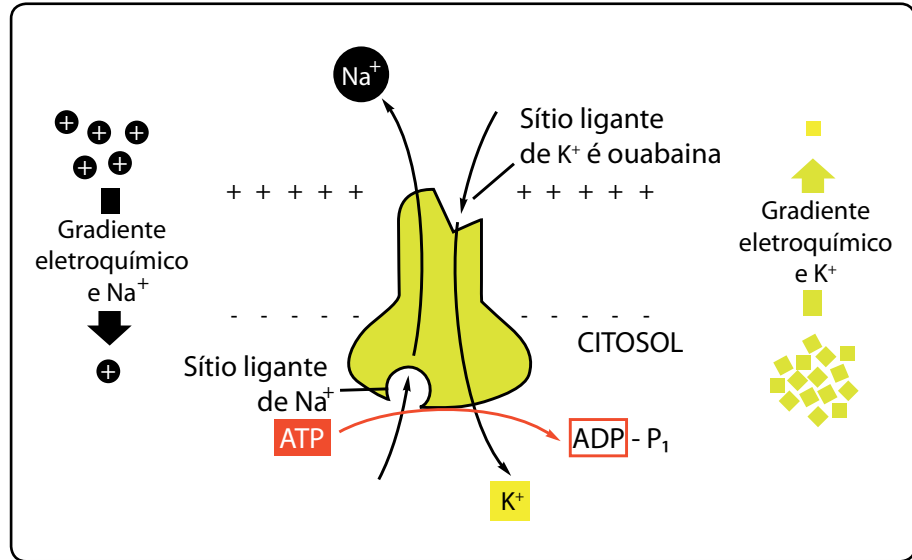


Figura 2.23 - A bomba de Na^+/K^+ é útil no transporte de membranas animais. Essa proteína carreadora utiliza a energia da hidrólise de ATP para bombear Na^+ para fora da célula e K^+ para dentro, ambos contra seus gradientes eletroquímicos. A ouabaína é uma droga que se liga à bomba e inibe sua atividade por evitar a ligação de K^+ . (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 396).

2.10.2 Transporte em massa

1. **Endocitose:** compreende o processo através do qual a célula adquire, do meio externo, partículas grandes ou macromoléculas. Esse processo se caracteriza pelo transporte de **macromoléculas** e de partículas de fora para dentro da célula, com gasto de energia. Há dois tipos de endocitose, a saber, a **fagocitose** e a **pinocitose**.

a) **Fagocitose:** (fagos “comer”), é um processo que se caracteriza pelo englobamento e digestão de **partículas** e **microorganismos**. A célula, em contato com a partícula, emite pseudópodes que a englobam, formando um vacúolo chamado de **fagossomo**. É nessa cavidade que ocorrerá a digestão e a posterior absorção dos produtos obtidos. A fagocitose é observada principalmente em células isoladas, como amebas e glóbulos brancos. No caso da ameba, trata-se de um processo de alimentação de muitos protozoários unicelulares; no

caso dos glóbulos brancos, é um processo de defesa contra bactérias que invadem o organismo. Nos vertebrados, esse processo é usado por algumas células para defender o organismo contra a penetração de corpos estranhos e para destruir as células velhas do organismo (Figura 2.24).

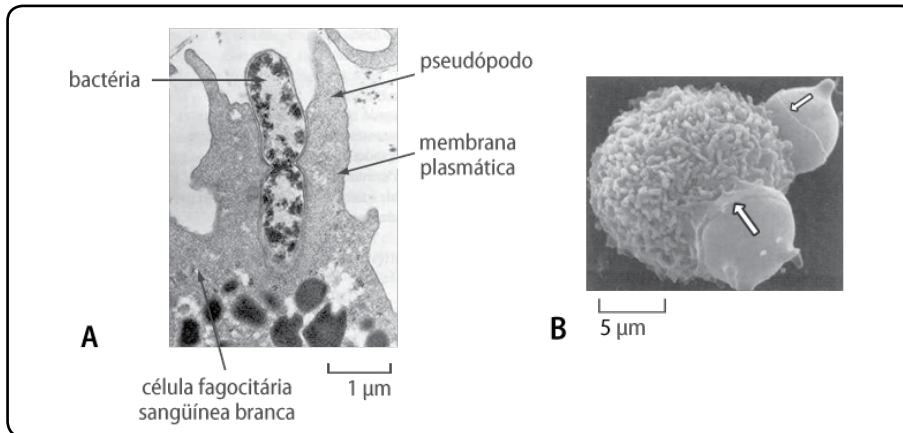


Figura 2.24 - (A) A fagocitose de uma bactéria por uma célula sanguínea branca. Micrografia eletrônica de uma célula branca fagocitária sanguínea (um neutrófilo) ingerindo uma bactéria, que está em processo de divisão. A célula sanguínea branca estendeu projeções da superfície chamadas de pseudópodos, que progressivamente envelopam a bactéria. (Cortesia de Dorothy F. Bainton/ALBERTS, p. 524). (B) Um macrófago elimina um par de células vermelhas do sangue. As setas brancas nesta micrografia eletrônica de varredura apontam para as extremidades das finas lâminas de membrana dos pseudópodos que o macrófago está estendendo como colarinhos para englobar as células vermelhas. As células vermelhas do sangue são deformadas à medida que são comprimidas pelos macrófagos. (Cortesia de Jean Paul Revel/ALBERTS et al., p. 524).

b) Pinocitose: (pinos “beber”), é um processo que se caracteriza pelo englobamento de **macromoléculas**. A membrana plasmática, na região de contato com o material, se invagina, aprofundando-se para o interior do citoplasma, formando pequenas vesículas. Essa vesícula se desprende da membrana, formando um **pinossomo**. Nem todas as células realizam fagocitose, mas a maior parte das células realiza pinocitose. É através desse processo que as células intestinais capturam gotículas de gordura do tubo digestivo (Figura 2.25).

2. **Exocitose:** é o processo pelo qual uma célula elimina substâncias para o meio extracelular. Como exemplo, temos a liberação de neurotransmissores pelas células nervosas, a regeneração da membrana perdida na endocitose e a exportação de glicoproteínas pelas células do epitélio do intestino delgado (Figura 2.26).

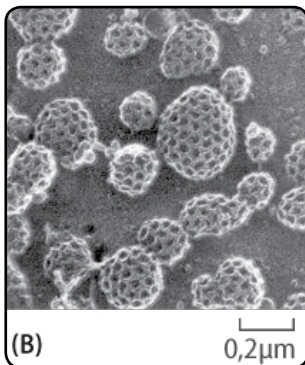
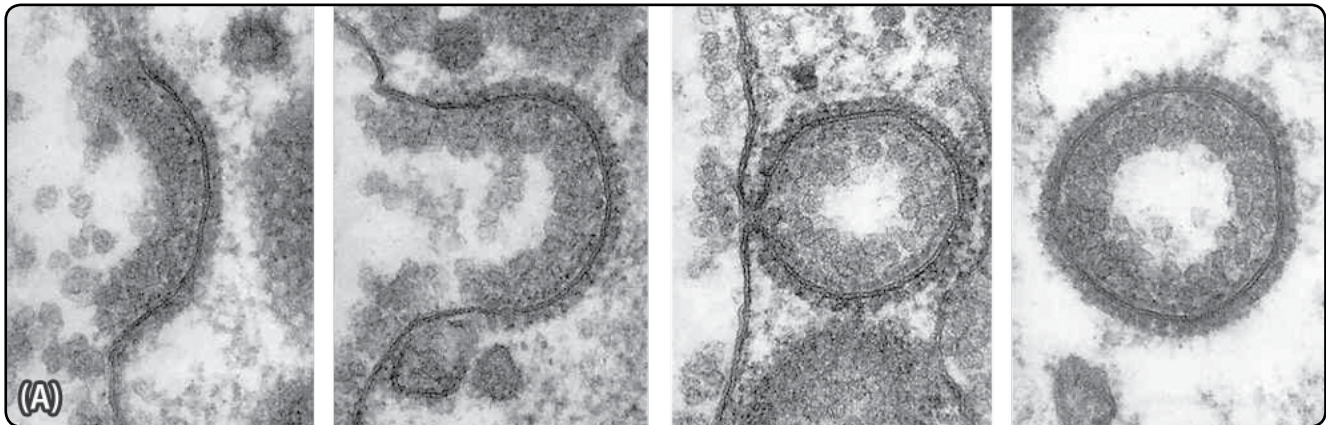


Figura 2.25 - As moléculas de clatrina formam gaiolas em forma de cestas que ajudam a moldar membranas em vesículas. (A) Micrografias eletrônicas demonstrando a sequência de eventos na formação de uma vesícula revestida de clatrina a partir de uma fossa revestida. As fossas e vesículas revestidas de clatrina aqui apresentadas são anormalmente grandes e são formadas na membrana plasmática de um óócito de galinha. Elas estão envolvidas na captação de partículas construídas de lipídeos e proteínas do óócito para formar a gema. (B) Micrografia eletrônica demonstrando inúmeras fossas e vesículas revestidas de clatrina brotando da superfície interna da membrana plasmática de células de pele cultivadas. (A. cortesia de M.M. Perry e A.B. Gilbert, *J. Cell Sci.* 39: 257-272, 1979. The Company of Biology; B. de J. Heuser, *J. Cell Biol.* 84:560-583, 1980. Rockefeller University Press. ALBERTS et al., p. 513).

Doença relacionada

Fibrose cística – a característica marcante da fibrose cística é um defeito no transporte de Cloro nos epitélios afetados, incluindo os ductos de glândulas sudoríparas e as células envolvendo o trato respiratório. Em 1984, foi demonstrado que os canais de Cl^- não funcionam adequadamente nas células epiteliais dos pacientes com fibrose cística. A base molecular da doença foi elucidada em 1989, com o isolamento do gene da fibrose cística através de clonagem molecular. A sequência do gene revelou que este codifica uma proteína (denominada CFTR), reguladora da condutância trans-membrana da fibrose cística. Uma variedade de estudos subsequentes demonstrou que a CFTR funciona como um canal de Cl^- e que as mutações responsáveis pelo estabelecimento da fibrose cística resultam diretamente no transporte deficitário de Cl^- .

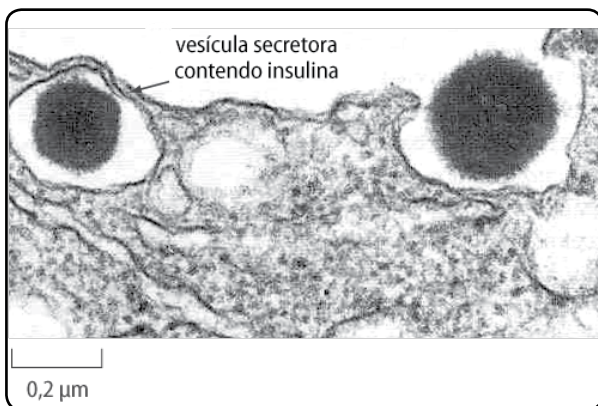


Figura 2.26 - As vesículas secretoras descarregam agregados concentrados de proteínas. A micrografia eletrônica mostra a liberação de insulina para o espaço extracelular a partir de uma vesícula secretora de uma célula pancreática-β. A insulina é armazenada de uma forma altamente concentrada em cada vesícula secretora e é liberada somente quando a célula é sinalizada a secretar por um aumento dos níveis de glicose no sangue. (Cortesia de Leilo Orci, de L. Orci, J.D.Vassali e A. Perrelet, *Sci. Am.* 256:85-94, 1988/ALBERTS et al., p. 523).

Prevenção e Tratamento

Assim como outras doenças hereditárias, o isolamento do gene da fibrose cística possibilita um mapeamento genético para a identificação dos indivíduos portadores do alelo mutado. Uma possibilidade é a utilização de drogas que estimulem a abertura dos canais de Cl^- nos epitélios afetados.

Resumo

A membrana plasmática é constituída por uma bicamada lipídica, intercalada por proteínas integrais e periféricas. Essas moléculas de lipídios são capazes de se difundirem na própria monocamada, e arranjam-se espontaneamente quando em contato com a água. Existem três classes principais de moléculas de lipídios da membrana — fosfolipídios, glicolipídios e o colesterol. A composição lipídica das monocamadas interna e externa é diferente, refletindo as diferentes funções das duas faces de uma membrana. A variedade de lipídios que são encontrados nas membranas de diferentes tipos de células, e de diferentes organelas, reflete também a variedade de funções que essas membranas executam. Enquanto a bicamada lipídica determina a estrutura básica das membranas biológicas, as proteínas são as responsáveis pela maioria das funções dessas membranas.

Muitas proteínas da membrana estão mergulhadas na bicamada lipídica. Em algumas dessas proteínas transmembranas, a cadeia polipeptídica atravessa toda a bicamada, enquanto outras proteínas, como as periféricas, se associam à membrana não atravessando a bicamada lipídica, e sim se ligando a uma proteína transmembrana através das interações não-covalentes.

Uma das funções da membrana é a permeabilidade seletiva, isto é, a capacidade de controlar o que entra e sai da célula. Nessa estrutura, os lipídios têm como uma de suas principais funções formar uma barreira que impeça as substâncias hidrossolúveis de atravessarem a membrana. Os caminhos para a passagem dessas substâncias pela membrana são as proteínas, que exercem controle sobre a passagem da maior parte das substâncias hidrossolúveis que atravessam a membrana.

A maioria das funções que são realizadas pelas membranas não só depende da quantidade de proteínas, mas também dos tipos existentes; como exemplo, temos a bainha de mielina, que atua como um isolante térmico para os axônios dos neurônios. Neste tipo celular, apenas 25% da membrana é constituída de proteínas, enquanto que na membrana interna das mitocôndrias e dos cloroplastos, a quantidade de proteínas que estão presentes nestas membranas chegam a 75%.

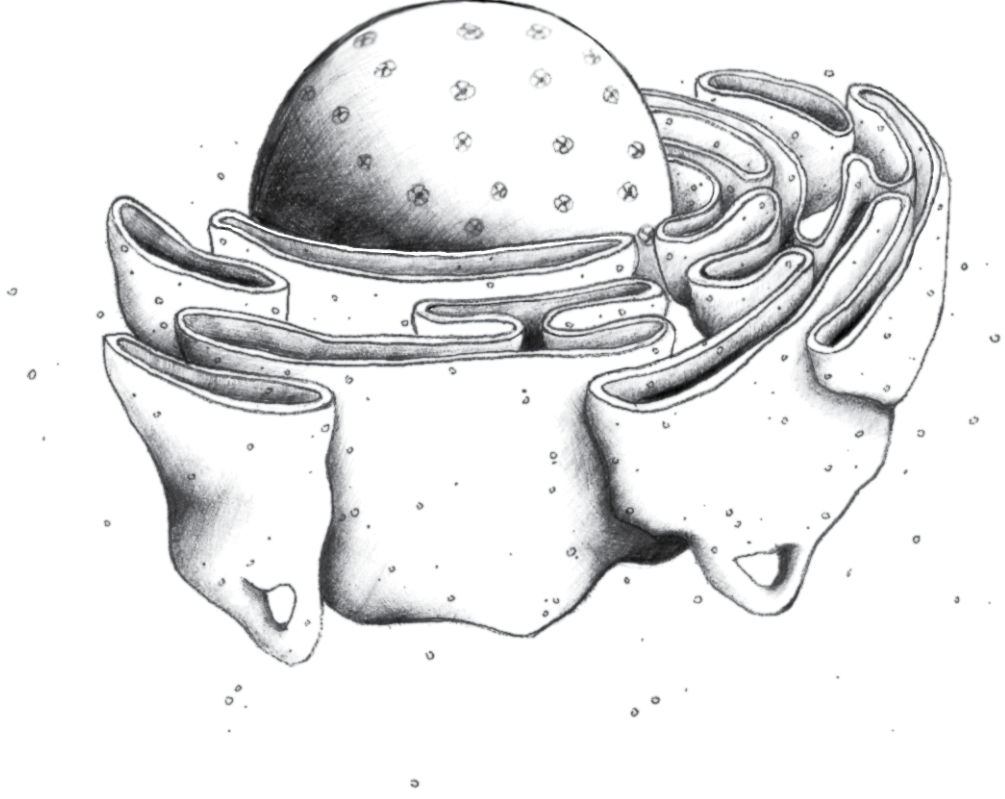
Na membrana plasmática de todas as células eucarióticas, a maioria das proteínas e dos lipídios expostos na superfície celular contém cadeias de oligossacarídeos ligados covalentemente. Essa cobertura de carboidratos forma o chamado glicocálice, que é o responsável pelas interações celulares.

Com capacidade enorme de adquirir conformações espaciais as mais diversas, as membranas celulares constituem os limites identificadores das diversas organelas no interior celular e da própria célula, cabendo à membrana plasmática essa última função.

A membrana plasmática pode ser considerada como a entidade reveladora dos estados metabólicos celulares, uma vez que é a responsável pelas relações intercelulares ou realizadas entre a célula e o seu meio. Seu funcionamento e integridade dependem fundamentalmente da reposição de seus elementos constituintes, principalmente de proteínas. Qualquer alteração, portanto, na quantidade e tipos de lipídios e de proteínas, afeta não só a membrana celular, como também as membranas das várias organelas, pela mudança em sua composição bioquímica. Desse modo, as funções da membrana plasmática ficam comprometidas, fato extremamente crítico para a manutenção da vitalidade celular.

Além da membrana plasmática, as células eucariontes são constituídas por sistemas de endomembranas, que formam compartimentos especializados com composição química e funções específicas, denominadas organelas. Dentre as organelas que constitui o sistema de endomembranas, destacamos o retículo endoplasmático.

CAPÍTULO 3



Sistemas de Endomembranas

Neste capítulo, estudaremos os componentes celulares envolvidos com os processos de síntese, além de caracterizá-los em nível ultra-estrutural e funcional. Além disso, iremos identificar e caracterizar a organela envolvida nos processos de digestão intracelular, relacionando esses processos com sua função. Identificaremos, também, as patologias ligadas aos lisossomos.

3.1 Retículo endoplasmático (RE)

O retículo endoplasmático aparece em todas as células eucariontes, embora em proporções diferentes, formado por um conjunto de membranas que delimitam cavidades com formas variadas. Tipicamente, suas membranas constituem mais que a metade do total de membranas de uma célula animal média e estão relacionadas com diversas funções celulares. Com frequência, ele é escasso e pouco desenvolvido em células embrionárias ou indiferenciadas. No entanto, aumenta de tamanho e de complexidade com a diferenciação celular.

O RE é formado por uma rede de túbulos ramificados e sacos achatados que se estendem da membrana nucle-

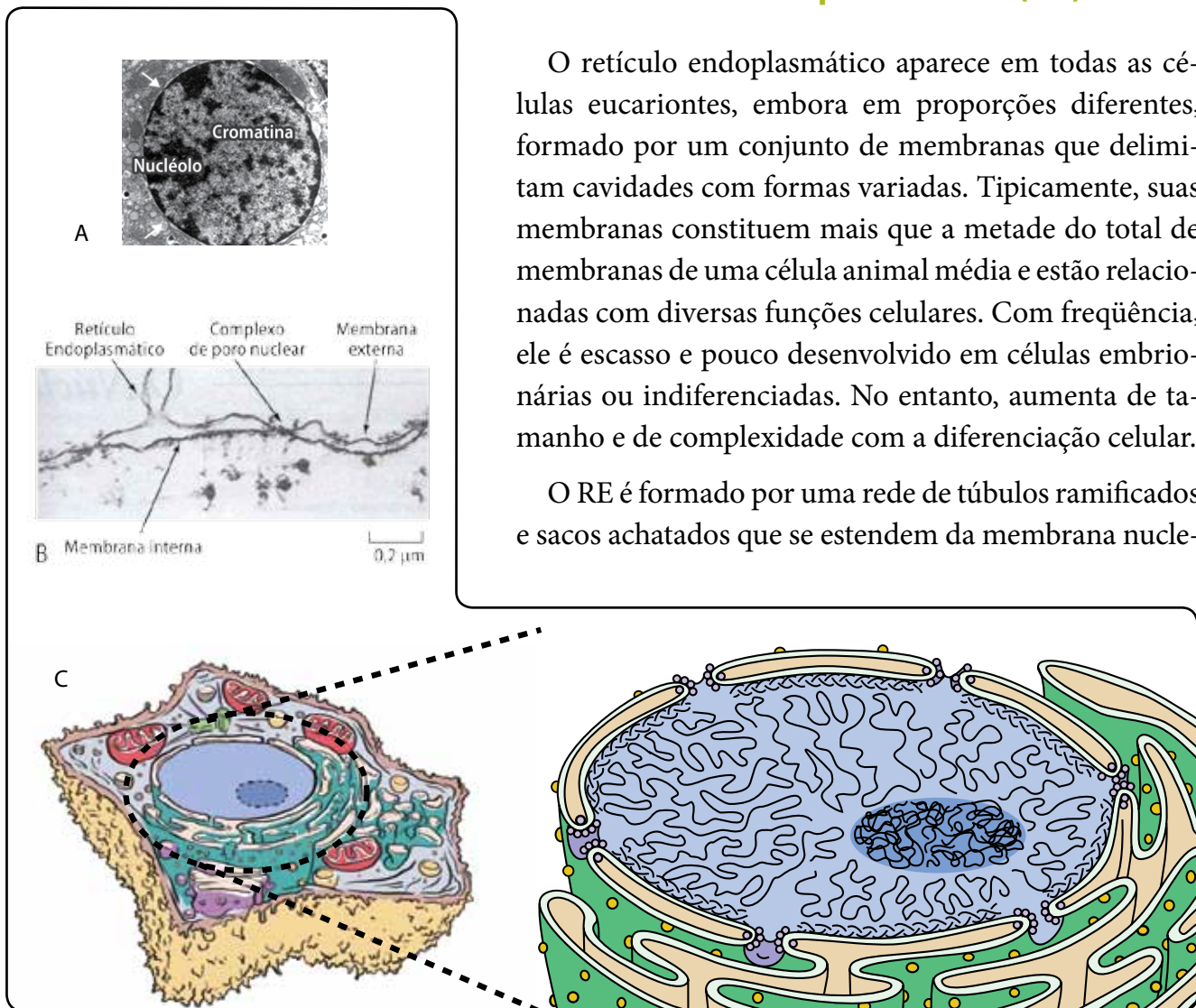


Figura 3.1 - O envelope nuclear (A). Uma micrografia eletrônica de um núcleo. As membranas nucleares interna e externa são unidas por complexo de poros nucleares (setas). (B) Uma micrografia eletrônica ilustrando a continuidade da membrana nuclear externa com o retículo endoplasmático. (C) Esquema do envelope nuclear. A membrana nuclear interna está demarcada pela lâmina nuclear, que serve como um sítio de ligação para a cromatina. (Ilustração baseada em COOPER, p. 340).

ar por todo o citoplasma (Figura 3.1). Acredita-se que todos os tubos e sacos se interconectem, de forma que a membrana do retículo endoplasmático forma uma estrutura contínua que engloba um espaço interno único. Esse espaço isolado do citosol é denominado de lúmen do RE ou espaço da cisterna do RE e, frequentemente, ocupa mais de 10% do volume total da célula. A membrana do RE separa o lúmen do RE do citosol e intermedeia a transferência seletiva de moléculas entre esses dois compartimentos.

Dois tipos distintos de RE são encontrados nas células e desempenham funções diferentes (Figura 3.2): o RE rugoso é revestido por ribossomos e está relacionado com a síntese (processamento) de proteínas; o RE liso, sem ribossomos, está envolvido, entre outras atividades, no metabolismo de lipídios. De um modo geral, além de sustentação estrutural, o RE desempenha uma função central na biossíntese de lipídios e de proteínas. Sua membrana é o sítio de produção de todas as proteínas transmembranas e lipídios para a maioria das organelas da célula, incluindo o próprio RE, os lisossomos, os endossomos, as vesículas secretoras e a membrana plasmática.

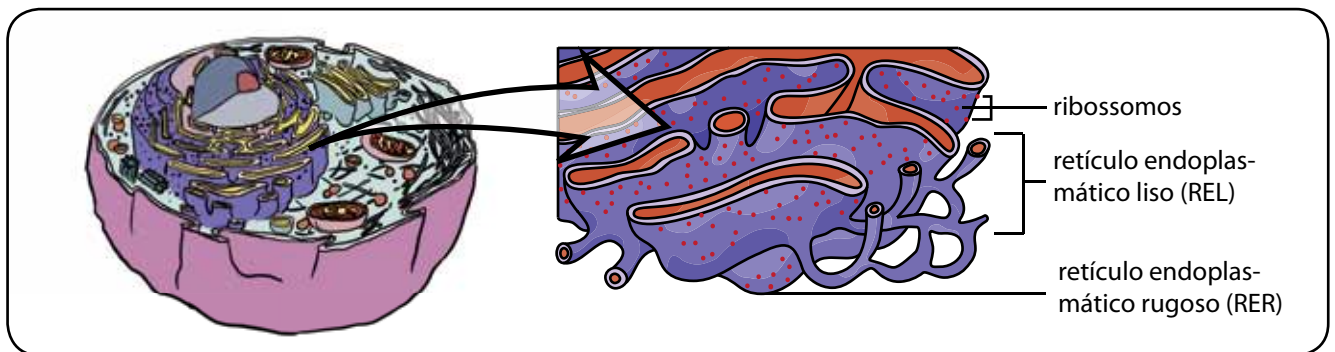


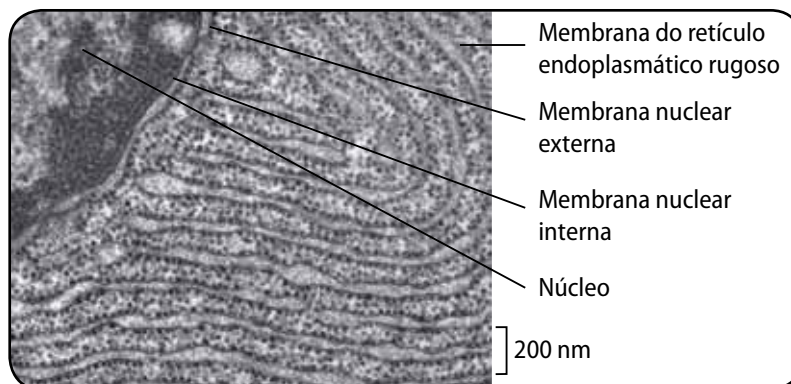
Figura 3.2 - Desenho esquemático do retículo endoplasmático rugoso (RER) e liso (REL). Observe a diferença existente na organização morfológica das membranas entre os dois tipos de retículo.

A membrana do RE também representa uma contribuição importante para as membranas das mitocôndrias e dos peroxissomos, pois produz a maioria de seus lipídios constituintes. Além disso, quase todas as proteínas que serão secretadas para o exterior da célula, assim como aquelas destinadas ao lúmen do RE, ao aparelho de Golgi ou aos lisossomos, são inicialmente direcionadas ao lúmen do RE.

3.1.1 Retículo endoplasmático rugoso (RER)

O RER, na maioria das células, é formado por lâminas achatadas dispostas paralelamente, formando cisternas conectadas entre si. Estas cavidades podem se mostrar mais ou menos dilatadas, de acordo com o estado funcional da célula (Figura 3.3).

Figura 3.3 - **O RE rugoso.** Micrografia Eletrônica do Retículo Endoplasmático Rugoso de uma célula pancreática exócrina que produz e secreta grandes quantidades de enzimas digestivas. As membranas do RER apresentam polissomos ligados à sua superfície externa. A produção de proteínas por esta organela é realizada de forma segregada (ALBERTS et al, p.690).



O papel principal do RER é o processamento e a distribuição de proteínas. Na maioria das células eucariontes, as proteínas são transportadas para dentro do retículo durante sua síntese, nos ribossomos ligados à membrana; este transporte é simultâneo à tradução das proteínas. Os ribossomos são direcionados a se ligar à membrana do retículo pela sequência de aminoácidos da cadeia polipeptídica que está sendo sintetizada, a sequência-sinal. Esta sequência é formada pelos 20 aminoácidos iniciais da cadeia polipeptídica. Assim que esta **sequência-sinal** emerge do ribossomo, ela é reconhecida por uma partícula reconhecedora do sinal (**PRS**). A PRS liga-se ao ribossomo e a síntese é interrompida, recomeçando quando o ribossomo se liga ao RE pelo receptor da PRS existente na membrana (Figura 3.4).

Após a ligação do ribossomo com a membrana do retículo, a PRS é liberada e reinicia a tradução com o crescimento da cadeia polipeptídica gradativamente transferida para o lúmen do retículo. Estas proteínas sintetizadas por ribossomos associados ao RE podem ser proteínas de membrana, de secreção ou lisossomais. As proteínas destinadas a serem incorporadas na membrana plasmática ou nas membranas do RE, do Golgi ou dos lisossomos são inicialmente inseridas na membrana do RE, em vez de serem liberadas no lúmen (Figura 3.5).

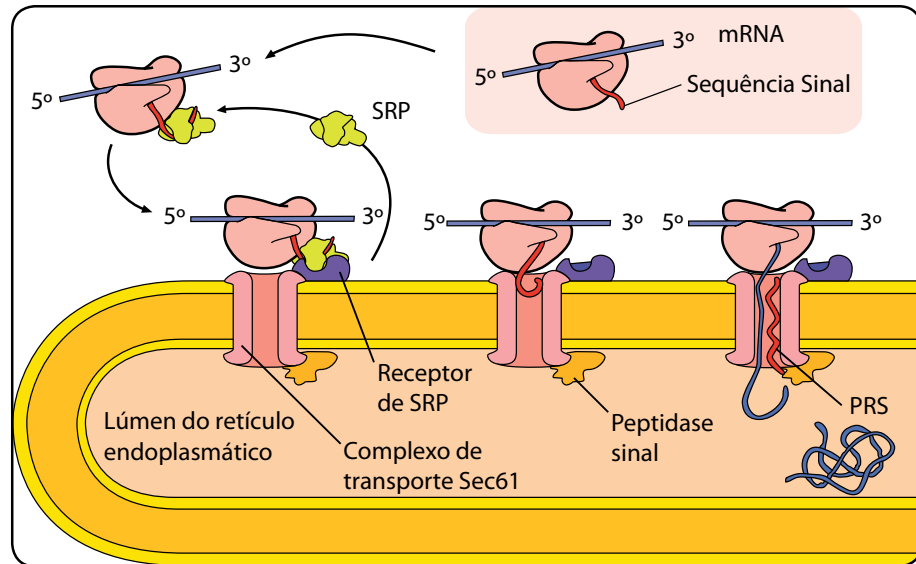


Figura 3.4 - Direcionamento simultâneo à tradução de proteínas secretadas para o RER. Passo 1: assim que a sequência sinal emerge do ribossomo, ela é reconhecida e ligada pela partícula de reconhecimento de sinal (PRS). Passo 2: a PRS escolhe o complexo até a membrana do RE, onde ela se liga ao receptor do PRS. Passo 3: a PRS é liberada, o ribossomo liga-se a um complexo de transporte pela membrana das proteínas Sec61, e a sequência-sinal é inserida em um canal de membrana. Passo 4: a tradução recomeça e a cadeia polipeptídica crescente é transportada através da membrana. Passo 5: clivagem da sequência-sinal por uma peptidase-sinal, que libera o polipeptídeo para o lúmen do RE. (Ilustração baseada em COOPER, p. 377).

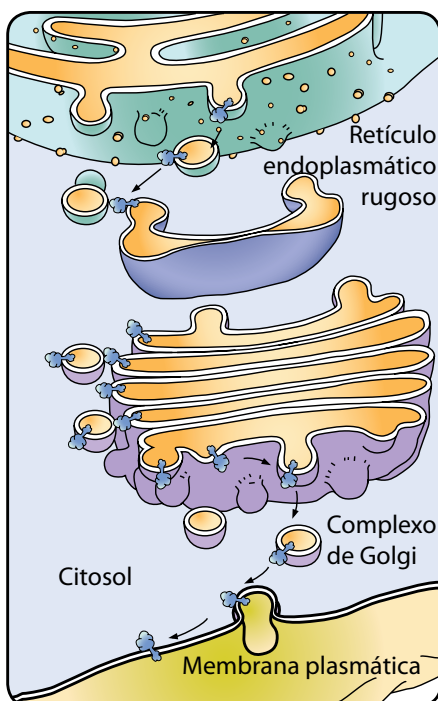


Figura 3.5 - Topologia da via secretora. Os lumens do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi são topologicamente equivalentes ao lado externo da célula. Consequentemente, as porções das cadeias polipeptídicas que são transportadas para o RE estão expostas na superfície da célula depois do transporte para a membrana plasmática. (Ilustração baseada em COOPER, p. 379).

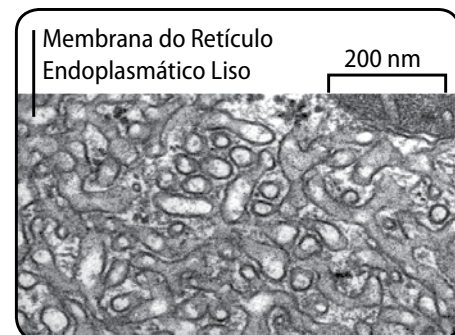


Figura 3.6 - O RE liso. Micrografia Eletrônica de Retículo Endoplasmático Liso de uma célula de Leydig do testículo humano, secretora de testosterona. (ALBERTS et al., p.691).

Em células de mamíferos, a importação das proteínas para o RE começa antes que a cadeia peptídica esteja completamente sintetizada, ou seja, ocorre co-traducionalmente. Isto distingue este processo da importação de proteínas para mitocôndrias, cloroplastos, núcleo e peroxissomos, que é pós-traducional e necessita de diferentes peptídeos-sinal. Como uma das extremidades da proteína é normalmente transportada para o RE, enquanto o restante da cadeia é sintetizada, a proteína nunca é liberada no citosol e, portanto, nunca corre o risco de assumir sua conformação final antes de atingir a proteína transportadora na membrana. Isto ocorre porque o ribossomo que está sintetizando a proteína está diretamente ligado à membrana do RE. Estes ribossomos ligados à membrana cobrem a superfície do RE, criando regiões denominadas retículo endoplasmático rugoso (RER).

3.1.2 Retículo endoplasmático liso (REL)

O retículo endoplasmático liso é geralmente constituído por vesículas e tubos contorcidos que têm continuidade com o RER (Figura 3.6). O RE liso é o principal local de síntese de lipídios que compõem as membranas celulares. Como são extremamente hidrofóbicos, os lipídios são sintetizados em associação com membranas celulares já existentes fora do contato com meio aquoso do citosol. As membranas das células eucarióticas são compostas principalmente de três tipos de lipídios: fosfolipídios, glicolipídios e colesterol. Eles são sintetizados no lado citosólico da membrana do retículo.

3.1.3 Funções do REL

Síntese de lipídios

O REL é abundante em células ativas no metabolismo de lipídios, como, por exemplo, as que sintetizam hormônios esteróides a partir do colesterol, como as do testículo e do ovário.

Dexintoxicação

Nas células do fígado, o REL é bem desenvolvido e predominam nas suas enzimas destoxicadores que inativam várias drogas lipossolúveis potencialmente nocivas.

Bomba de cálcio

No músculo estriado esquelético, o retículo endoplasmático liso é o principal reservatório de Ca^{++} no citoplasma. A concentração desses íons no citosol é muito baixa, sendo, porém, aumentadas as respostas a estímulos fornecidos por sinais químicos. O aumento se deve à liberação do Ca^{++} pelo REL, que leva à contração das miofibrilas, contraindo a célula muscular inteira. Quando cessam os efeitos dos estímulos químicos, os íons Ca^{++} retornam ao interior das cisternas do retículo por transporte ativo, consumindo energia.

Glicogenólise

A obtenção de glicose a partir do REL parece ocorrer, parcialmente, nas membranas do retículo liso por ação de uma enzima localizada nas suas membranas.

Para que as moléculas que são sintetizadas no RER e no REL possam ser finalizadas e endereçadas para locais específicos da célula, elas necessitam do complexo de Golgi.

3.2 Complexo de Golgi

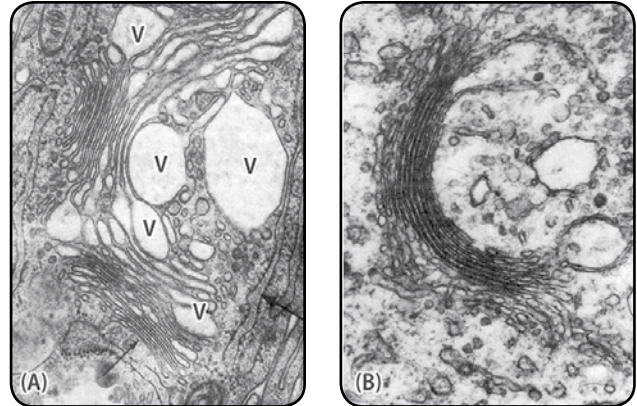
Tanto as proteínas como os lipídios que circulam pela via secretora em vesícula de transporte, brotando de uma organela e se fundindo com outra, transitam do RE para compartimentos intermediários e depois para o complexo de Golgi (Figura 3.7).

Morfologicamente, o Golgi é composto de sacos membranosos achatados empilhados associados a vesículas. Na maioria das células eucariontes, cada **pilha** possui de quatro a seis cisternas. É uma organela polarizada na estrutura e na função. Proteínas provenientes do RE entram pela face cis, que é convexa e normalmente orientada em direção ao núcleo, são transportadas através das cisternas intermediárias e saem pela face côncava **trans**.

O número de pilhas varia de tipo celular para tipo celular.

Enquanto passam pelo Golgi, as proteínas são modificadas e separadas para que sejam transportadas para seus destinos finais dentro da célula. O processamento e separação parecem ocorrer em uma seqüência ordenada dentro das diferentes regiões do Golgi, de maneira que este seja formado por muitos compartimentos discretos.

Figura 3.7 - Micrografia eletrônica do complexo de Golgi de vários tipos celulares. Em A, Golgi da célula secretora de muco (célula caliciforme do intestino). Observar o retículo endoplasmático rugoso que, em certas regiões, perde os ribossomos, transformando-se em retículo liso (setas). Do lado esquerdo, vesículas transportadoras confluem para o complexo de Golgi; do lado direito, saem vesículas grandes (V). 40.000x. Em B, complexo de Golgi da célula do testículo. Notar como os sacos membranosos estão dispostos compactamente. 30.000x. (JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 209).



Apesar de o número de compartimentos não ser definido, o Golgi geralmente é constituído por três regiões funcionalmente distintas: 1) a rede cis; 2) as cisternas mediais; e 3) a rede trans do Golgi (Figura 3.8). As proteínas, ou os lipídios, provenientes do RE são transportadas por compartimentos intermediários RE-Golgi, e então estas vesículas de transição se fundem com a face cis do Golgi.

A localização do complexo de Golgi varia de acordo com o tipo e a função da célula. Na maioria das células, localiza-se em uma região determinada no citoplasma perto do núcleo e dos centríolos. Nos neurônios, se apresenta como uma rede muito elaborada, a qual envolve todo o núcleo.

Nas células secretoras, é sempre muito desenvolvido. Nas células que secretam proteínas ou materiais ricos em carboidratos, o complexo de Golgi se apresenta mais compacto, localizado entre o

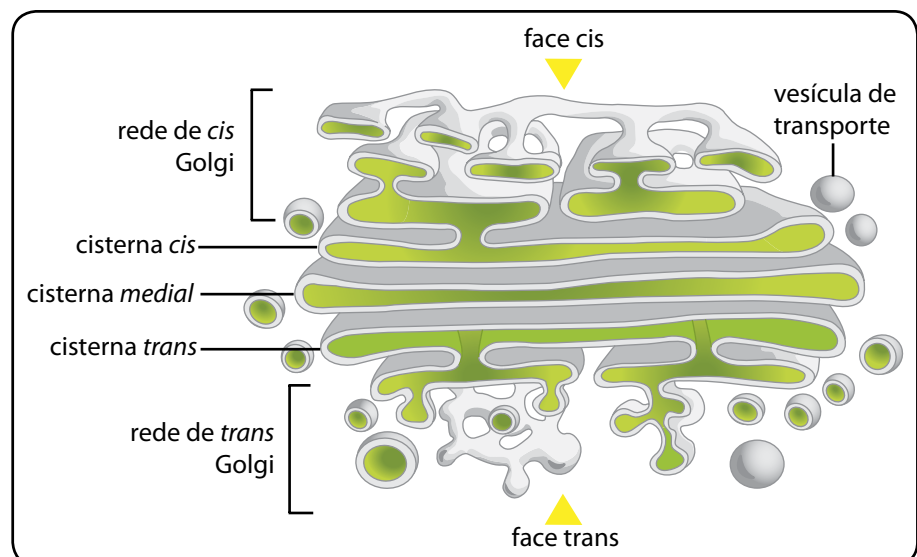


Figura 3.8 - Complexo de Golgi. Reconstrução tridimensional de uma pilha do Golgi. A pilha foi reconstruída a partir de micrografias eletrônicas do complexo de Golgi de células secretoras animais (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 48).

núcleo e a superfície celular. Por outro lado, nas células vegetais, é formado por vários conjuntos de cisternas espalhados por todo o citoplasma, onde cada conjunto constitui um **dictiossomo**.

As membranas do complexo de Golgi, assim como as demais membranas biológicas, são **lipoprotéicas**. No que se refere às **proteínas**, existem cerca de 30 cadeias polipeptídicas diferentes nas membranas do Golgi. No complexo de Golgi, as macromoléculas sofrem modificações pós-traducionais; estas alterações modificam profundamente as características funcionais das moléculas protéicas.

Quanto à sua função secretora, sabemos que em uma grande variedade de células glandulares, os materiais a serem secretados são empacotados no interior de corpos delimitados por membranas oriundos do complexo de Golgi. Estudos das células do pâncreas de mamíferos mostram que as proteínas são formadas primeiramente por RER e depois transferidas para o complexo de Golgi. Todavia, nas células vegetais que secretam polissacarídeos como a pectina, estes aparecem primeiramente acumuladas no complexo de Golgi, o que demonstra que é nesta estrutura que ocorre a síntese destas substâncias (Figura 3.9).

O complexo de Golgi também está associado à formação do acrossomo, uma grande estrutura localizada na cabeça do esper-

Entre os lipídios, os mais abundantes são os fosfolipídios.

Muitas destas proteínas são enzimas relacionadas com glicosilação, sulfatação e fosforilação de substratos.

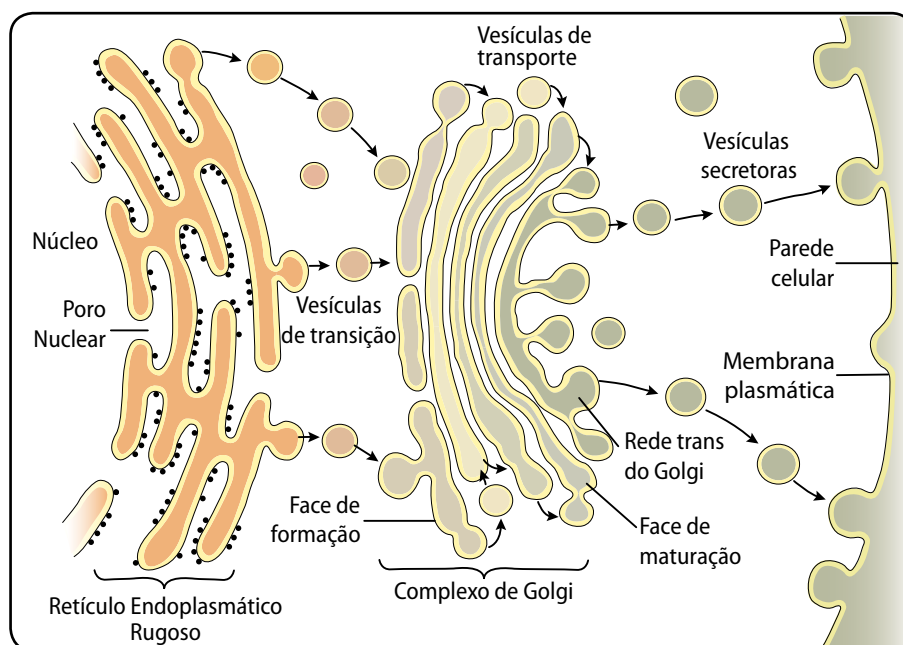


Figura 3.9 - Figura esquemática do sistema de endomembranas, mostrando a origem de novas membranas a partir do RE. Vesículas brotam do RE carregando substâncias e se fundem com a face de formação do complexo de Golgi. Vesículas brotam da face de maturação do Golgi, fundindo-se com a membrana plasmática, que descarrega seu conteúdo (Ilustração baseada em RAVEN, p. 57).

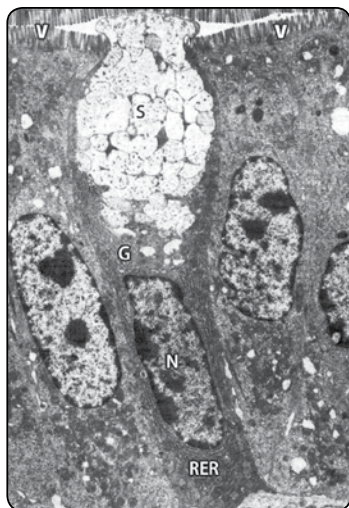


Figura 3.10 - Micrografia eletrônica de células do intestino delgado. Observe uma célula caliciforme típica, que secreta glicoproteína. O núcleo (N) localiza-se na base da célula, região rica em retículo endoplasmático rugoso (RER). Logo acima do núcleo, o complexo de Golgi (G). A maior parte da célula é ocupada por grandes grânulos de secreção (S) pouco eletrodensos. Trata-se de uma célula que sintetiza, secreta, acumula e exporta complexos de proteínas e polissacarídeos. Lateralmente, células do intestino, especializadas na absorção de nutrientes, com microvilos na superfície (V). 7.500 x. (JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 212).

matozóide, delimitada por uma membrana que abriga enzimas lisossômicas. É a partir do complexo de Golgi, também, que se formam grãos de zimogênio, vesículas que contêm enzimas concentradas típicas das células acinosas do pâncreas. O mesmo ocorre nas células caliciformes do intestino delgado (Figura 3.10).

O Golgi participa na adição glicídica em glicoproteínas, GAGs, proteínas de membrana e enzimas lisossomais. A sucessão de eventos para a secreção das vesículas é: glicosilações sucessivas (diferenciação molecular), fosforilações e sulfatações (enzimas lisossomais manose-6-fosfato — marcador específico), proteólises parciais (ativação), distribuição específica de material e, por fim, o “empacotamento”, cujos produtos são os grânulos da secreção. Estes grânulos são tanto maiores e mais claros quanto mais *imaturos* forem. Eles são liberados de acordo com a necessidade da célula, e a maturação é importante para seu armazenamento.

3.3 Lisossomos

Os lisossomos são organelas envolvidas por membrana, ricas em uma variedade de enzimas, capazes de hidrolizar todos os polímeros biológicos, tais como: proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídios. Os lisossomos funcionam como um sistema digestivo da célula, servindo tanto para degradar material capturado do exterior como para digerir componentes da própria célula que perderam sua atividade funcional.

Os lisossomos são vesículas membranosas esféricas e densas, mas podem apresentar tamanhos e formas variáveis, dependendo do seu estágio funcional. Os lisossomos contêm cerca de 50 diferentes enzimas digestivas com atividade máxima em pH ácido e, por isso, suas enzimas são conhecidas como **hidrolases ácidas**. Sendo os lisossomos ricos em enzimas digestivas, as células seriam facilmente destruídas se estas não estivessem confinadas em uma organela envolvida por membrana. Entretanto, como as enzimas lisossômicas só são ativas em pH ácido (5,0) e o citosol é neutro, a ruptura do lisossomo não leva à digestão da própria célula.

Para manter o pH interno ácido, os lisossomos devem concentrar ativamente íons H^+ (prótons). Na membrana do lisossomo

existe uma enzima que utiliza a energia liberada pela hidrólise do ATP para bombear prótons para dentro do lisossomo, a partir do citosol, estabelecendo, assim, o pH ideal da atividade das hidrolases ácidas (Figura 3.11).

3.3.1 Origem dos lisossomos

Todas as proteínas direcionadas para os lisossomos são glicoproteínas sintetizadas no RER. Inicialmente, elas adquirem, na fase cis do complexo de Golgi, uma fosforilação marcadora. Uma fosfo-transferase adiciona então uma fosfo-N-acetilglicosamina ao C₆-OH de uma manose (Figura 3.12).

A unidade manose-6-fosfato é reconhecida por receptores presentes na membrana da face trans do complexo de Golgi, favorecendo a ligação destas glicoproteínas aos receptores (Figura 3.13).

Vesículas contendo glicoproteínas ligadas a receptores brotam da rede trans do complexo e se ligam às vesículas pré-lisossômicas, as quais são mais ácidas que as provenientes do complexo de Golgi. Esta diminuição do pH promove a dissociação da glicoproteína de seu receptor; estes pré-lisossomos se fundem a lisossomos maduros, recebendo sua enzima. Neste ponto, os receptores de manose-6-fosfato retornam ao complexo de Golgi. Este receptor, como o transportador vesicular, é reciclado, podendo ser utilizado várias vezes. Caso não ocorra a acidificação das vesículas, não há dissociação do complexo enzima-receptor e, conseqüentemente, o

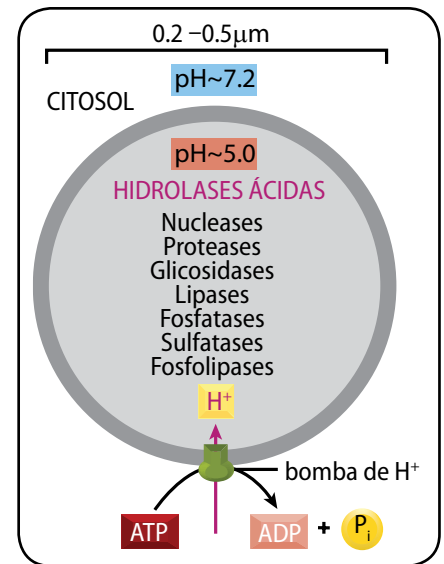


Figura 3.11- Os lisossomos. As hidrolases ácidas são enzimas hidrolíticas ativadas sob condições ácidas. O lúmen é mantido em um pH ácido por uma H⁺ATPase da membrana que bombeia H⁺ para dentro do lisossomo (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p.740).

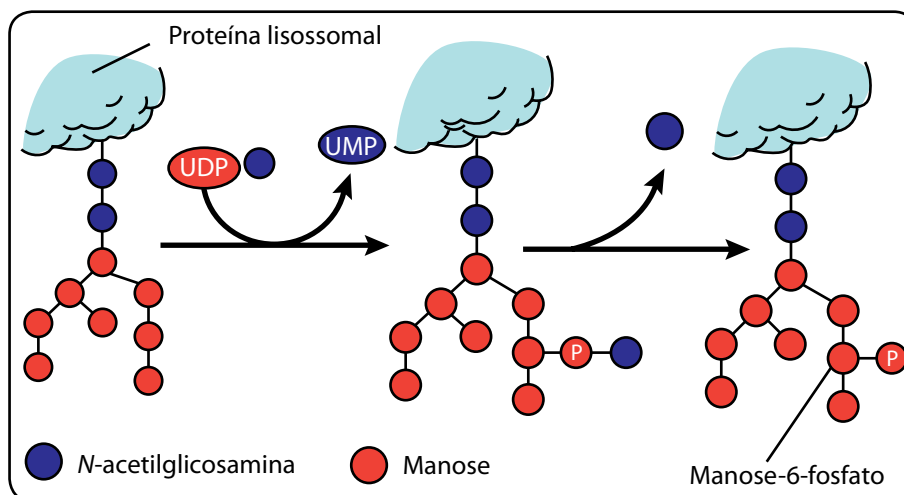


Figura 3.12 - Direcionamento de proteínas lisossomais pela fosforilação de resíduos de manose. As proteínas destinadas à incorporação nos lisossomos são reconhecidas especificamente e modificadas pela adição de grupos fosfato na posição 6 dos resíduos de manose. Na primeira etapa da reação, fosfatos da N-acetilglicosamina são transferidos para os resíduos de manose da UDP-N-acetilglicosamina. Os grupos são, então, removidos, deixando manose-6-fosfato. (Ilustração baseada em COOPER, p. 392).

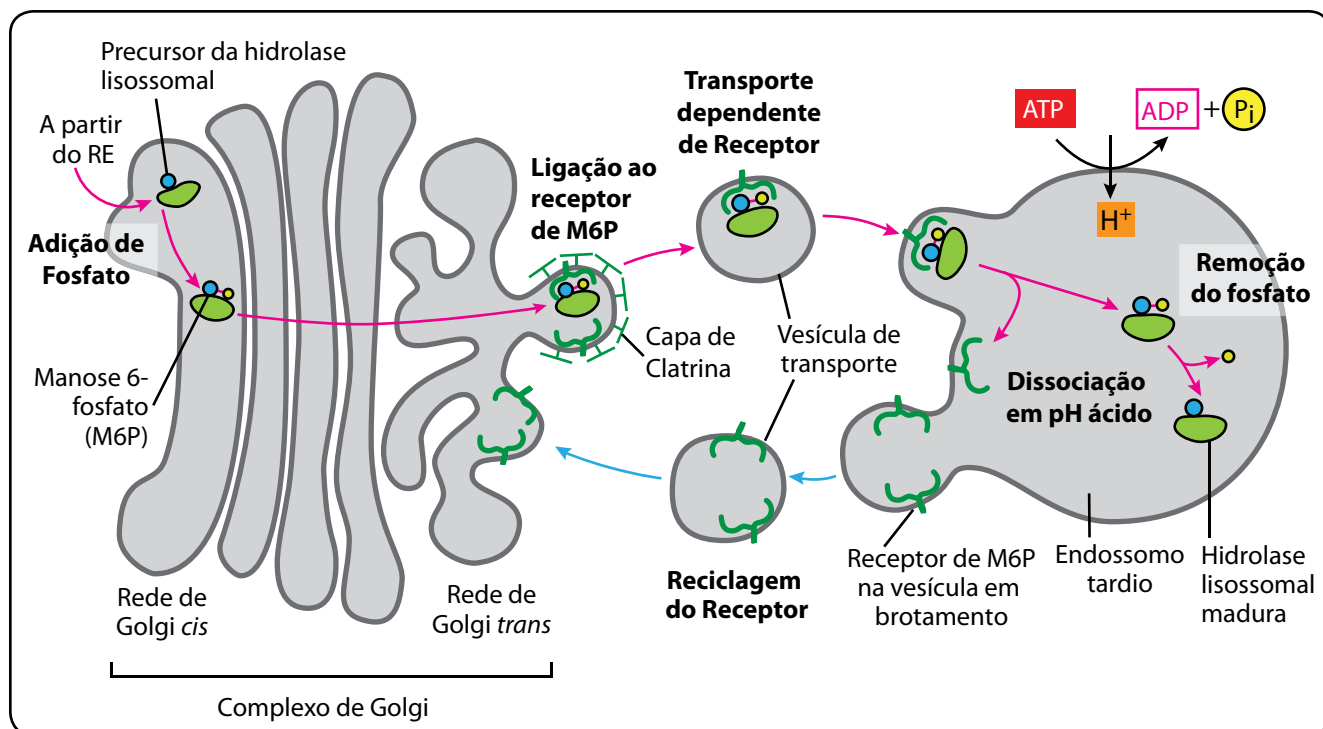


Figura 3.13 - Transporte de hidrolases lisossomais, recém-sintetizadas, para o lisossomo. Os precursores das hidrolases lisossomais são covalentemente modificados pela adição de grupos manose-6-fosfato (M6P) na rede de Golgi cis. Eles são então segregados de todos os outros tipos de proteínas na rede de Golgi trans, devido a uma classe específica de vesículas de transporte (denominadas vesículas recobertas de clatrina), que brotam da rede de Golgi trans e concentram receptores manose-6-fosfato específicos, que se ligam às hidrolases lisossomais modificadas. Subsequentemente, estas vesículas se fundem com endossomos tardios. No baixo pH dos endossomos tardios, as hidrolases se dissociam dos receptores, que são reciclados no aparelho de Golgi para outras etapas de transporte. Nos endossomos tardios, o fosfato é removido da manose ligada às hidrolases, garantindo, assim, que as enzimas não retornem ao aparelho de Golgi com o receptor. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., 2004).

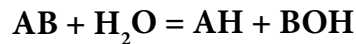
receptor de manose-6-fosfato não retorna ao complexo de Golgi. Na carência do receptor, as glicoproteínas, que deveriam ter como destino os lisossomos, continuam na via da secreção e são exportadas da célula.

3.3.2 Atividade lisossomal

As substâncias captadas por endocitose, qualquer que seja a modalidade praticada pela célula, destinam-se a constituir reservas, a fornecer, após digestão, moléculas disponíveis para os diversos processos metabólicos, a atuar como elementos energéticos e a atuar como constituintes de novas estruturas.

A digestão celular das substâncias endocitadas é operada por enzimas designadas por **hidrolases ácidas**, transportadas, na maior

parte dos casos, por lisossomos oriundos do aparelho de Golgi. A hidrólise de uma determinada molécula é uma reação química que se processa em meio aquoso e da qual resulta a cisão da referida molécula, de acordo com a equação genérica:



Consoante à natureza do substrato AB, assim intervém uma determinada hidrolase: peptidases, glucosidades, lípases, nucleases, etc. O processo de digestão decorre a partir da fusão de um ou mais lisossomos com os endossomas e, conseqüentemente, da mistura das enzimas lisossômicas com as substâncias captadas. O processo prossegue até a completa digestão, e as moléculas liberadas são assimiladas através das membranas do vacúolo e incorporadas no citosol.

A existência de partes não digeríveis dá origem, no termo do processo, à formação de um pequeno vacúolo com esse material, que se designa por **corpo residual**.

A captura e a digestão de elementos não digeríveis podem estar na origem de certas patologias, tais como a gota e a silicose.

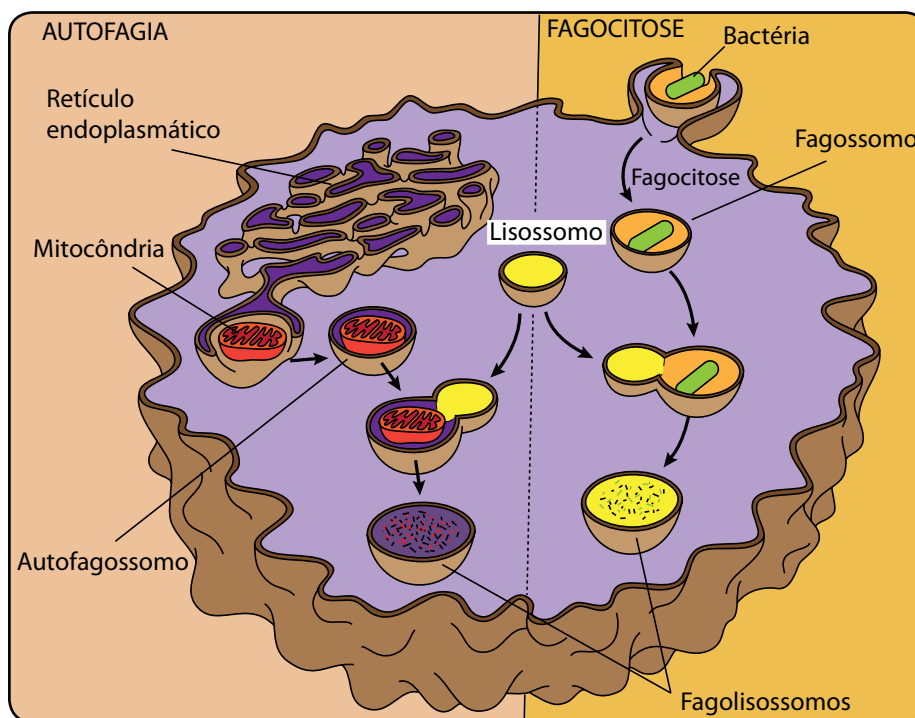
A **gota**, doença que atinge preferencialmente os homens, resulta de uma perturbação do metabolismo das purinas, caracterizada pela produção excessiva de ácido úrico no plasma, conduzindo à precipitação de cristais de urato de sódio no líquido sinovial das articulações. Estes cristais são fagocitados pelos granulócitos e estabelecem-se, em seguida, numerosas pontes de hidrogênio entre as arestas do cristal e os átomos de oxigênio dos pólos hidrófilos da face interna da membrana do endossoma. Quando ocorre a junção dos lisossomos primários aos endossomas (formação dos lisossomos secundários), produzem-se deformações da membrana e, conseqüentemente, rupturas nos pontos de ligações aos cristais. A liberação das enzimas lisossômicas no hialoplasma e, posteriormente, no líquido sinovial, desencadeia reações inflamatórias das articulações, ou artrite, sinal clínico da doença.

A **silicose**, doença profissional dos mineiros, é provocada pela inalação de partículas de sílica. Estas, arrastadas pelo ar até os alvéolos pulmonares, são fagocitadas pelos **macrófagos**, que asseguram

não só a defesa bacteriana, mas também a limpeza interior dos alvéolos. As partículas de sílica ingeridas ligam-se às paredes dos lisossomos secundários e provocam também a ruptura da membrana. A destruição dos macrófagos liberta no meio extracelular um fator que estimula a síntese do colágeno pelos fibroblastos e a formação de uma fibrose do tecido pulmonar, que afeta as funções respiratórias.

Os lisossomos também são responsáveis pela autofagia, a remoção gradual de elementos da própria célula. O primeiro passo da autofagia deve ser o envolvimento de uma organela (por exemplo, uma mitocôndria) por uma membrana do REL. A vesícula resultante — um **autofagossomo** — funde-se com um lisossomo, e o conteúdo é digerido (Figura 3.14).

Figura 3.14 - Lisossomos na fagocitose e na autofagia. Na fagocitose, grandes partículas (como bactérias) são captadas para dentro de vacúolos fagocíticos ou fagossomos. Na autofagia, organelas internas (como as mitocôndrias) são envolvidas por fragmentos de membranas do REL, formando os autofagossomos. Tanto os fagossomos como os autofagossomos fundem-se com lisossomos para formar grandes fagolisossomos, nos quais seu conteúdo é digerido. (Ilustração baseada em COOPER, p. 406).



Doenças por deficiências lisossomais

Mutações nos genes que codificam para as enzimas lisossomais são responsáveis por mais de 30 doenças genéticas diferentes, que são chamadas de **doenças de armazenamento** dos lisossomos,

porque o material a ser digerido fica acumulado dentro dos lisossomos dos indivíduos afetados. Veja exemplos de deficiências lisossômicas na tabela abaixo.

Tabela 3 - Doenças por deficiências lisossômicas				
Organela envolvida	Doença	Causa	Alteração tecidual	Aspectos clínicos
Lisossomos	Leucodistrofia metacromática	Ausência de sulfatase	Acúmulo de lipídios nas células	Retardamento mental e psicomotor
Lisossomos	Doença de Hurler	Ausência de L-iduronidase	Acúmulo de dermatan-sulfato em células	Retardamento mental e do crescimento

Tabela 3 - Doenças por deficiências lisossômicas

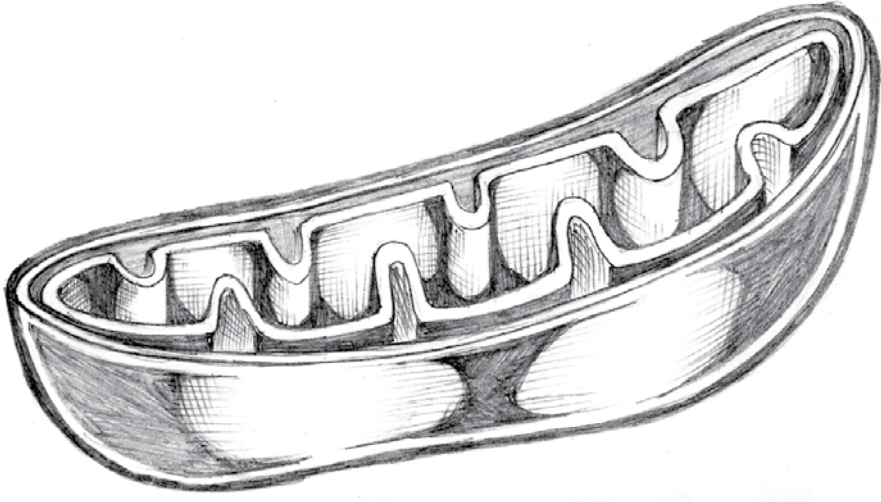
Por outro lado, uma exceção intrigante é a doença I-cell, que é causada por uma deficiência da enzima que catalisa o primeiro passo da marcação das enzimas lisossômicas com manose-6-fosfato no complexo de Golgi. O resultado é um erro geral das enzimas lisossômicas, que deveriam ser incorporadas ao lisossomo, entretanto, não são reconhecidas na face trans do Golgi pela ausência da manose-6-fosfato, resultando na não-formação dos lisossomos. Estas enzimas que foram destinadas para o Golgi podem ser secretadas da célula.

Resumo

As células eucariontes apresentam-se divididas em compartimentos funcionais, graças à presença de um sistema de endomembranas, que cria micro-regiões intracelulares especializadas, nas quais algumas funções podem ser realizadas com mais eficiência. Além desse papel de compartimentalização, o sistema de endomembranas cria uma enorme superfície, na qual se prendem, em seqüência predeterminada, moléculas enzimáticas e transportadoras.

Entre os principais compartimentos das células eucariontes, estão o que separa o núcleo do citoplasma, o envoltório nuclear, os retículos endoplasmáticos (liso e rugoso), o complexo de Golgi e os lisossomos. O envoltório nuclear é composto de uma dupla unidade de membrana, que separa o núcleo do citoplasma. O retículo endoplasmático rugoso (RER) está envolvido com a síntese protéica, além de nele ser iniciada a glicosilação (glicosilação inicial). O retículo endoplasmático liso (REL) é envolvido na síntese de lipídios. Assim que uma proteína deixa o RER, disposta em vesículas, essas se dirigem ao complexo de Golgi, que está envolvido nas modificações pós-transcricionais das cadeias polipeptídicas ou proteínas, como glicosilação final, carboxilações, sulfatações, ou sofre ação de uma enzima proteolítica, deixando uma proteína biologicamente ativa. Dessa forma, uma proteína que sai do complexo de Golgi terá os mais diversos destinos. Uma das modificações que ocorrem no complexo de Golgi é a fosforização de enzimas destinadas aos lisossomos. Assim que as enzimas são marcadas por uma fosforização na manose (manose-6-fosfato), essa proteína terá um destino certo, que são os lisossomos. Esses têm sua função envolvida com as digestões celulares, de moléculas oriundas de fagocitose, pinocitose ou autofagia.

CAPÍTULO 4



Bioenergética e Metabolismo

Neste capítulo, estudaremos as principais fontes de obtenção de energia, bem como conheceremos a ultra-estrutura, origem e função das organelas envolvidas nesse processo. Também conheceremos o catabolismo das moléculas de glicose, dos ácidos graxos e dos aminoácidos. Ao final, identificaremos patologias ligadas às organelas envolvidas nesses processos.

4.1 Introdução

As organelas citoplasmáticas constituem compartimentos especializados que apresentam diversas atividades metabólicas. A geração de energia metabólica é a atividade principal de todas as células, e duas organelas citoplasmáticas se dedicam especialmente ao metabolismo energético e à produção de ATP. As mitocôndrias são responsáveis pela geração da maior parte da energia útil derivada da quebra de lipídios e carboidratos, e os cloroplastos utilizam a energia capturada da luz solar para gerar ATP, necessário para a síntese de carboidrato a partir de CO_2 e H_2O . E a terceira organela aqui apresentada, o peroxissomo, contém enzimas envolvidas em uma grande atividade de rotas metabólicas, entre as quais a degradação de ácidos graxos e o metabolismo de um sub-produto da fotossíntese. As mitocôndrias e os cloroplastos possuem seu próprio genoma, que contém alguns que são transcritos e traduzidos dentro da própria organela, mas eles necessitam da síntese protéica do genoma do núcleo.

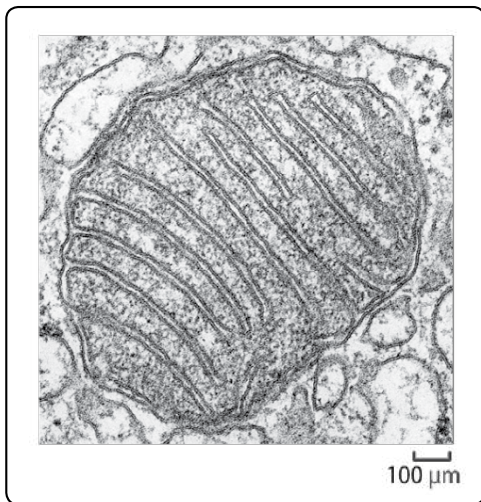


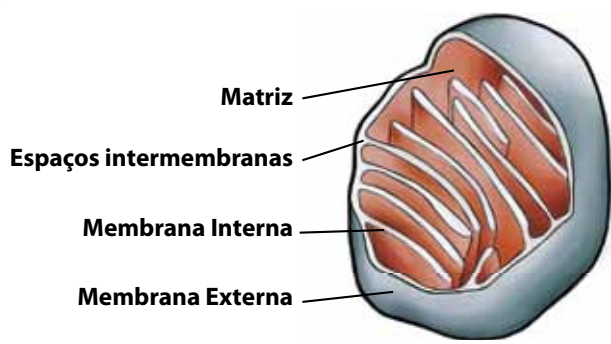
Figura 4.1 - Organização geral de uma mitocôndria. Cada uma das quatro regiões em uma mitocôndria contém um conjunto único de proteínas que permite que cada compartimento realize as suas funções distintas. Em mitocôndrias do fígado, cerca de 67% das proteínas mitocondriais totais estão localizadas na matriz, 21% estão localizadas na membrana externa e 6% no espaço intermembranas. (ALBERTS et al., p. 422).

4.2 Mitocôndrias

As mitocôndrias são organelas de forma arredondada, algumas vezes alongada, presentes no citoplasma das células eucariontes. Essas organelas possuem um diâmetro aproximado de 0,5 a 1,0 μm , variando o comprimento, que pode chegar a 10 μm (Figura 4.1).

Elas são mais numerosas em células cujo metabolismo energético é alto, como nas células musculares estriadas. Em muitas células as mitocôndrias estão espalhadas por todo citoplasma, mudando sua posição na dependência de proteínas motoras das células, mas em outras elas são fixas, como nos epitélios ciliados, próximos dos cílios, nos espermatozoides próximos da região onde tem início a movimentação dos flagelos e nas próprias células musculares estriadas, entre os feixes de miofibrilas.

As mitocôndrias têm um papel crucial na geração de energia metabólica nas células eucarióticas. Elas são responsáveis pela maior parte da energia útil derivada da degradação de carboidratos e ácidos graxos, que são convertidos em ATP pelo processo de fosforilação oxidativa (Figura 4.2).



Matriz: Este amplo espaço interno contém uma mistura altamente concentrada de centenas de enzimas, incluindo aquelas necessárias à oxidação do piruvato e ácidos graxos e para o ciclo do ácido cítrico. Contém também várias cópias idênticas do DNA genômico mitocondrial, ribossomos mitocondriais especiais, tRNAs e várias enzimas requeridas para a expressão dos genes mitocondriais.

Membrana Externa: Devido ao fato de conter uma grande proteína formadora de canais (chamada de porina), a membrana externa é permeável a todas as moléculas de 5.000 daltons ou menos. Outras proteínas existentes nessa membrana incluem as enzimas envolvidas na síntese de lipídios mitocon-

driais e enzimas que convertem substratos lipídicos em formas que possam ser subsequentemente metabolizadas na matriz.

Membrana Interna: A membrana interna (vermelha) é dobrada em numerosas cristas que aumentam grandemente a sua área superficial total. Ela contém proteínas com três tipos de funções:

1. Aquelas que conduzem as reações de oxidação da cadeia respiratória;
2. Um complexo enzimático chamado ATP-Sintase, que produz ATP na matriz;
3. Proteínas transportadoras específicas que regulam a passagem de metabólitos para dentro e para fora da matriz.

Uma vez que um gradiente eletroquímico é estabelecido por meio dessa membrana pela cadeia respiratória para direcionar a ATP-Sintase, é importante que a membrana seja impermeável a íons e à maioria das pequenas moléculas carregadas.

Espaço Intermembranas: Este espaço (branco) contém várias enzimas que utilizam o ATP proveniente da matriz para fosforilar outros nucleotídeos.

Figura 4.2 - Estrutura de uma mitocôndria. As mitocôndrias são delimitadas por um sistema de membrana dupla, que consiste em uma membrana interna e uma externa. As dobras da membrana interna (cristas) projetam-se para o interior da matriz. (Ilustração baseada em COOPER, p. 412).

Apesar de as mitocôndrias apresentarem genoma próprio, que codificam os tRNAs, rRNAs e algumas proteínas mitocondriais, a maioria das proteínas mitocondriais é traduzida em ribossomo citossólicos livres e, posteriormente, importada para o interior da organela por meio de sinais específicos.

As mitocôndrias são delimitadas por um sistema de duplas membranas, a membrana interna e a externa, separadas por um espaço intermembranas. A membrana interna apresenta dobras, chamadas **cristas**, que se estendem para o interior, a **matriz** da organela. Cada um desses compartimentos desempenha diferentes funções, e a matriz e as cristas representam os principais compartimentos funcionais das mitocôndrias (Figura 4.3).

Degradação da glicose e dos ácidos graxos

Todas essas reações acontecem na ausência de O_2 atmosférico.

A matriz contém o genoma mitocondrial e as enzimas responsáveis pelas reações centrais do metabolismo **oxidativo**. Os estágios iniciais do metabolismo da glicose, ou glicólise, ocorrem no citoplasma, onde a glicose é convertida, através de inúmeras reações enzimáticas, em **piruvato**. Essa nova via metabólica e de maior rendimento energético do que a glicólise foi chamada de fosforilação oxidativa e produz mais de 36 mols de ATP.

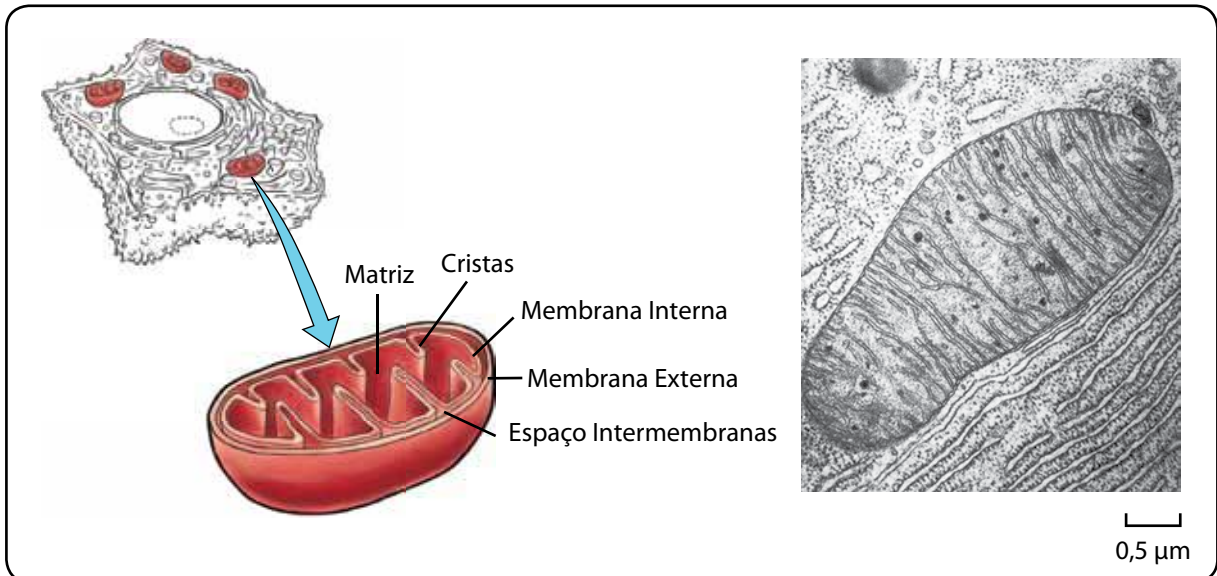


Figura 4.3 - Diagrama simplificado dos três estágios do metabolismo celular que leva dos alimentos aos produtos de descarte nas células animais. Esta série de reações produz ATP, que é então utilizado para promover reações de biossíntese e outros processos que necessitam de energia na célula. O estágio 1 acontece fora das células. O estágio 2 acontece principalmente no citosol, com exceção da etapa final de conversão do piruvato a grupos acetil na acetil-CoA, que acontece na mitocôndria. O estágio 3 acontece na mitocôndria. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 112).

O piruvato formado é então transportado para a mitocôndria, onde sua oxidação completa até CO_2 produz a maior parte de energia útil, que é o ATP, obtido a partir da degradação da glicose. Esse processo envolve a oxidação do piruvato em acetil CoA, que é degradado a CO_2 no **ciclo do ácido cítrico**. A oxidação dos ácidos graxos também produz acetil CoA, que é metabolizada de forma similar pelo ciclo do ácido cítrico (Figura 4.4).

Ou ciclo de Krebs.

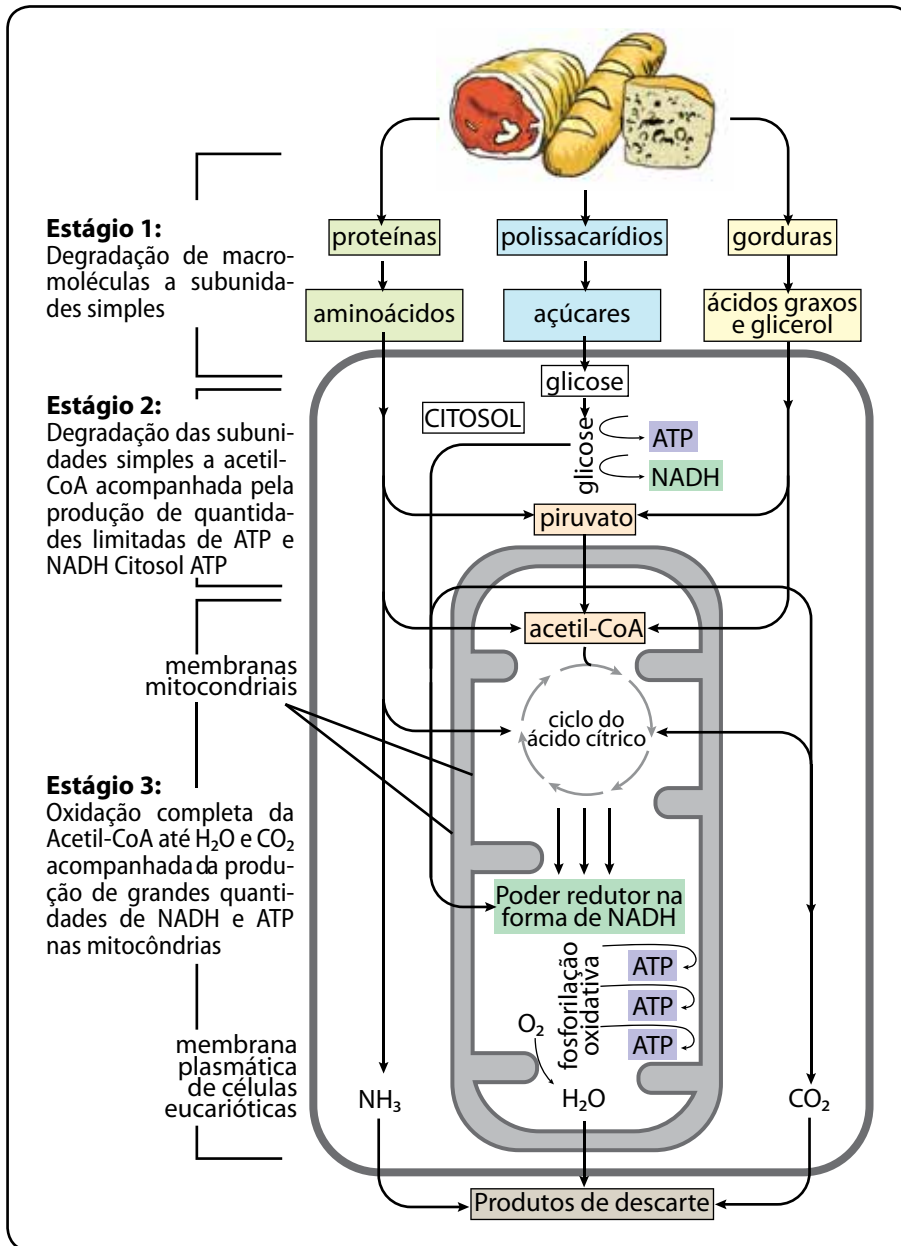


Figura 4.4 - Metabolismo na matriz das mitocôndrias. O piruvato e os ácidos graxos são importados do citosol e convertidos em acetil CoA e oxidada a CO_2 no ciclo do ácido cítrico, a rota central do metabolismo oxidativo. (Ilustração baseada em COOPER, p. 413).

Assim, as enzimas do ciclo do ácido cítrico, que estão **localizadas na matriz mitocondrial**, são elementos centrais na degradação oxidativa tanto dos carboidratos como dos ácidos graxos. O resultado final do ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) é a produção de hidrogênio, que fornecerá os prótons e os elétrons (para a cadeia transportadora de elétrons) e a produção de apenas 2 mols de ATP por mol de glicose consumida. Sua principal função é, portanto, produzir elétrons com alta carga de energia e prótons, gerando CO_2 . Seu rendimento energético é, portanto, baixo. Além dessas funções, o ciclo do ácido cítrico fornece metabólitos que serão usados na síntese de aminoácidos e hidratos de carbono.

A oxidação de acetil CoA a CO_2 está acoplada à redução de NAD^+ e de FAD^+ , respectivamente, a NADH e FADH_2 na cadeia transportadora de elétrons, que é formada por enzimas e compostos não-enzimáticos, cuja única função é transportar elétrons. A maior parte da energia derivada do metabolismo oxidativo é, então, produzida pelo processo de fosforilação oxidativa que ocorre nas **cristas das mitocôndrias**. Os elétrons de alta energia do NADH e FADH_2 são transferidos para o oxigênio molecular através de uma série de carreadores localizados na membrana interna, a cadeia transportadora de elétrons (Figuras 4.5 e 4.6).

Crista

Cristas são dobras em forma de prateleiras ou de túbulos, que aumentam a superfície de contato com a matriz.

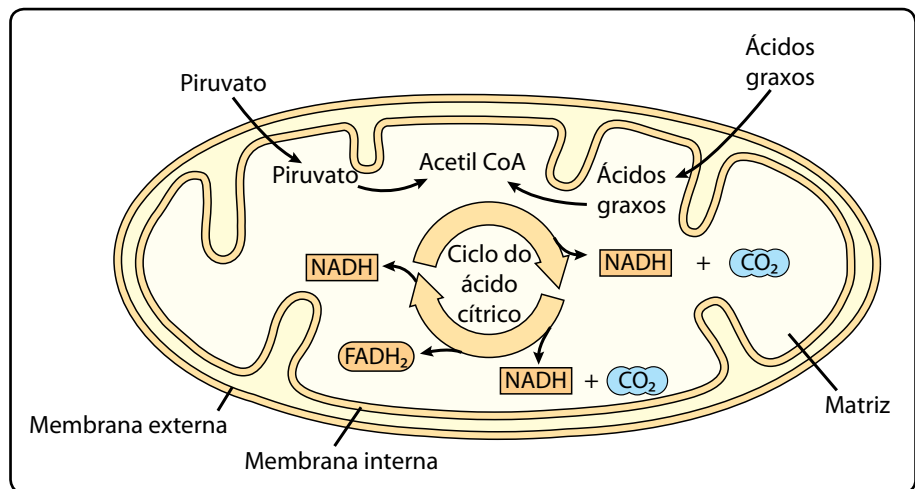


Figura 4.5 - O mecanismo geral de fosforilação oxidativa. À medida que um elétron de alta energia passa pela cadeia transportadoras de elétrons, parte da energia liberada é utilizada para direcionar os três complexos enzimáticos que bombeiam H^+ para fora do espaço da matriz. O gradiente eletroquímico de prótons resultante através da membrana interna direciona H^+ de volta via ATP-sintase, um complexo proteico transmembrânico que utiliza a energia do fluxo de H^+ para sintetizar ATP a partir de ADP e P_i na matriz. (Ilustrações baseadas em ALBERTS et al., p. 427).

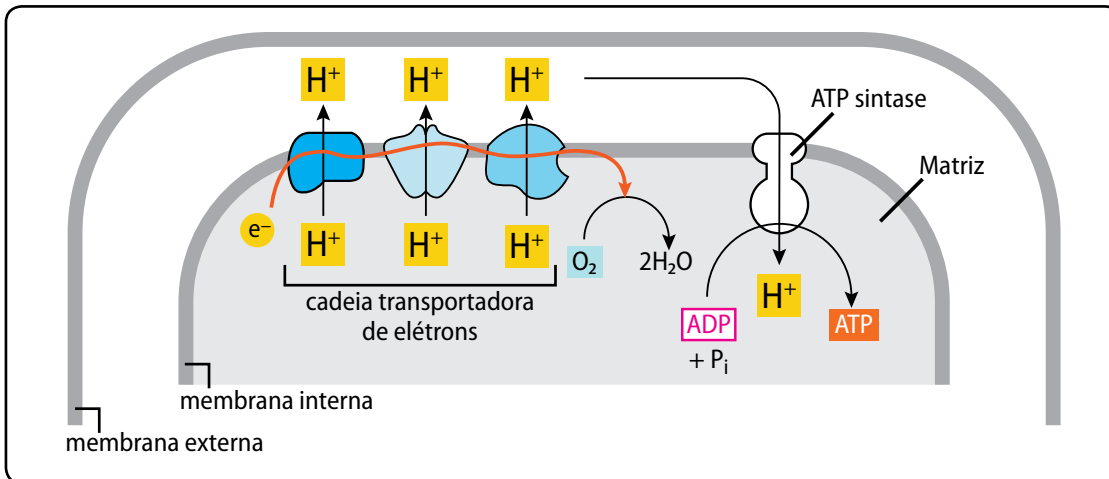


Figura 4.6 - O mecanismo geral de fosforilação oxidativa. À medida que um elétron de alta energia passa pela cadeia transportadora de elétrons, parte da energia liberada é utilizada para direcionar os três complexos enzimáticos que bombeiam H^+ para fora do espaço da matriz. O gradiente eletroquímico de prótons resultante através da membrana interna direciona H^+ de volta via ATP-sintase, um complexo proteico transmembrânico que utiliza a energia do fluxo de H^+ para sintetizar ATP a partir de ADP e P_i na matriz. (Ilustrações baseadas em ALBERTS et al., p. 427).

A energia derivada dessas reações de transporte de elétrons de alta energia é convertida, gradualmente, em energia potencial armazenada em um gradiente de prótons através da membrana interna da mitocôndria, que é utilizada para a síntese de ATP. Esse processo é muito eficiente e produz 36 mols de ATP por mol de glicose consumida (Figura 4.7).

Assim, a membrana mitocondrial interna representa o principal local de geração de ATP, o que acaba por refletir na sua estrutura. O ADP é transferido do citossol para a mitocôndria, onde é transformado em ATP, e passa para o citossol, onde irá exercer diversas funções. O fluxo de ADP para dentro da mitocôndria e do ATP ao citossol é constante (Figura 4.8).

Ao chegarem ao fim do sistema transportador, esses prótons se ligam a um oxigênio com um elétron, produzindo água (Figura 4.9).

É nas cristas mitocondriais, por exemplo, onde estão as proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa e no transporte de metabólitos entre o citoplasma e a mitocôndria. A membrana interna é impermeável à maioria dos íons e das pequenas moléculas, sendo a passagem de partículas com carga elétrica dificultada pelas **car-**

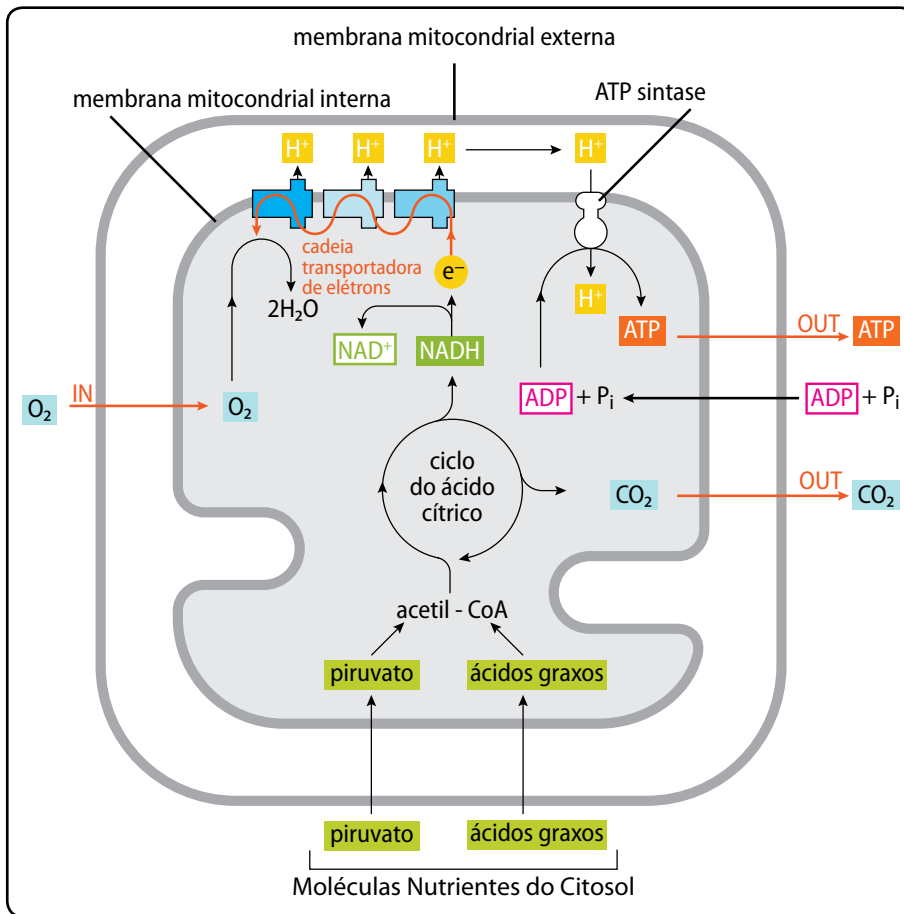


Figura 4.7 - Resumo do metabolismo gerador de energia das mitocôndrias. Piruvato e ácidos graxos entram na mitocôndria (base), são quebrados a acetil-CoA e metabolizados pelo ciclo do ácido cítrico, o qual reduz NAD^+ a NADH (e FAD^+ a FADH_2 , não mostrado). No processo de fosforilação oxidativa, elétrons de alta energia do NADH (e FADH_2) são transferidos ao longo da cadeia transportadora de elétrons da membrana interna até o oxigênio (O_2). Este transporte de elétrons gera um gradiente de prótons ao longo da membrana interna, o qual é utilizado para promover a produção de ATP pela ATP-sintase. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 424).

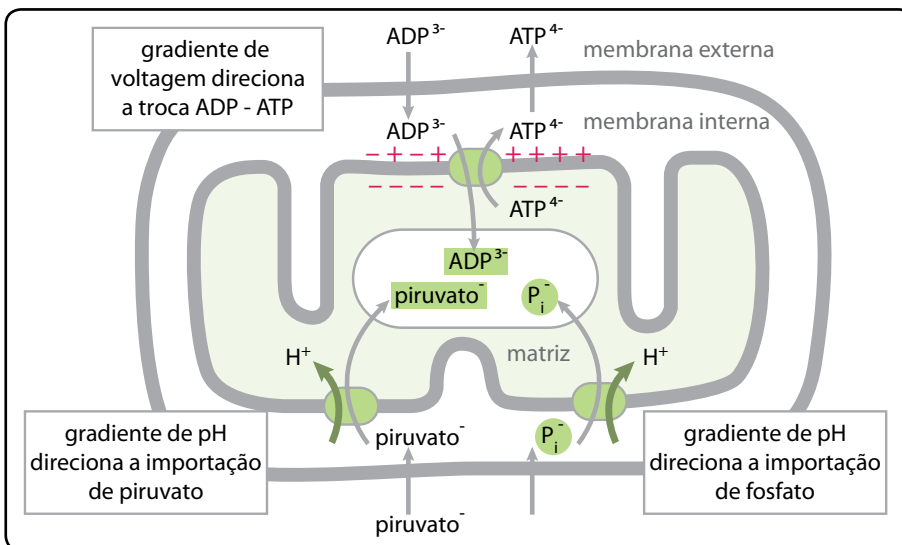


Figura 4.8 - Alguns dos produtos de transporte ativo dirigidos pelo gradiente eletroquímico de prótons através da membrana mitocondrial interna. Piruvato, fosfato inorgânico e ADP são transportados para a matriz, enquanto ATP é bombadeado para fora. A carga sobre cada uma das moléculas transportadas está indicada para comparação com o potencial de membrana, o qual é negativo internamente, como apresentado. A membrana externa é livremente permeável a todos esses compostos. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 429).

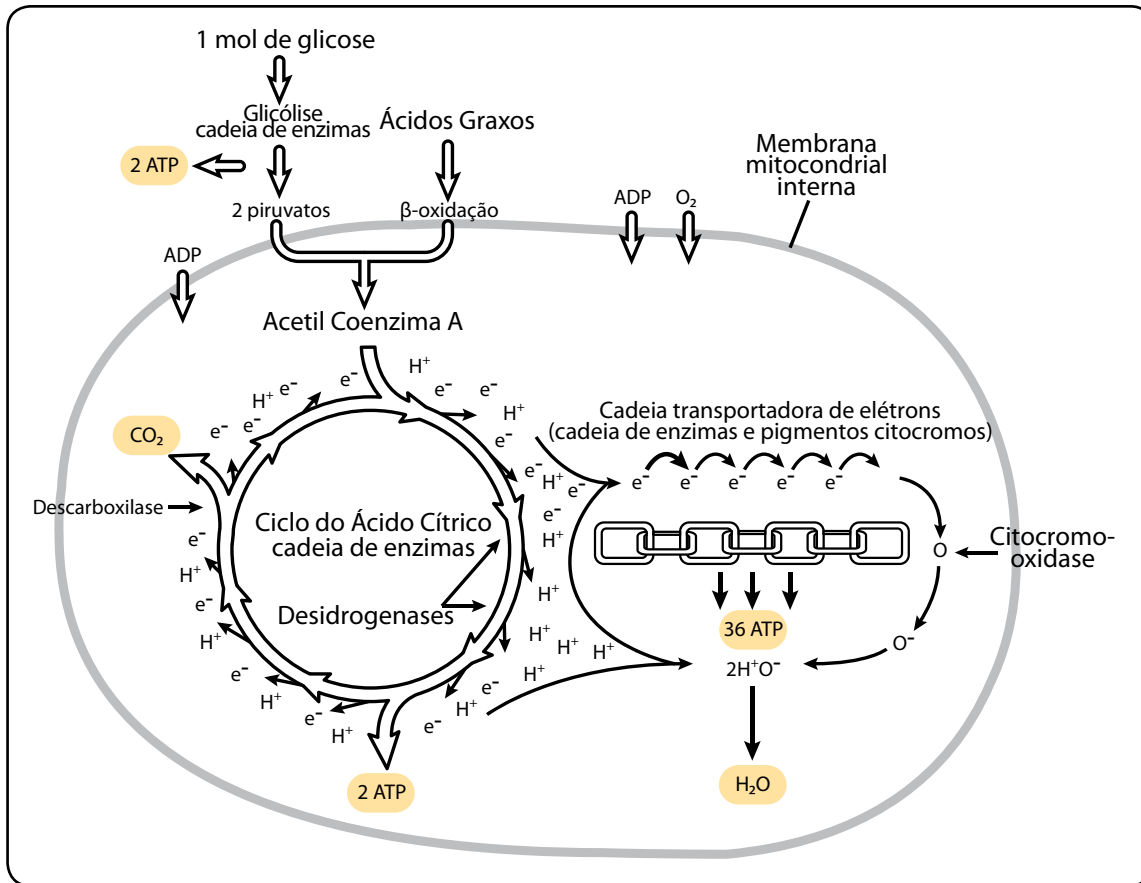


Figura 4.9 - Desenho ilustrando os principais processos que ocorrem na respiração celular aeróbica. A linha cinza indica os limites de uma mitocôndria. Inicialmente, ocorre a produção de acetilcoenzima A, que entra no ciclo do cítrico, do qual resulta a produção de elétrons, prótons, CO_2 e ATP. Os elétrons percorrem a cadeia transportadora de elétrons e produzem muito ATP. Os prótons combinam-se com o oxigênio, ativado pelo sistema citocromo-oxidase, produzindo água. Observe que, no citosol, 1 mol de glicose produz 2 mols de ATP, ficando muita energia nas moléculas de piruvato. Esse piruvato entra na mitocôndria, onde a energia restante do mol inicial de glicose é transferida para cerca de 38 mols de ATP. Portanto, a mitocôndria aumenta muito a capacidade celular de aproveitar a energia contida nos nutrientes. Observe, ainda, a entrada de oxigênio e ADP (adenosina-difosfato) na mitocôndria. O desenho não mostra, mas a mitocôndria necessita também de P_i (fosfato inorgânico) para que o ADP seja transformado em ATP. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA; CARNEIRO, p. 66).

diolipinas, e conseqüentemente, constitui uma barreira funcional à passagem de pequenas moléculas carregadas entre o citossol e a matriz mitocondrial. Ao contrário, a membrana externa é bastante permeável a diversas moléculas, e essa permeabilidade é dada pelas **porinas**, que são proteínas da membrana externa das mitocôndrias e que permitem a passagem por difusão livre de moléculas.

Na superfície da membrana interna, que está voltada para o interior da mitocôndria, existem pequenas partículas em forma de raquete, que se inserem pelos seus cabos nessa membrana inter-

na. São os chamados **corpúsculos elementares**. É através desses corpúsculos elementares que os prótons atravessam a membrana interna, gerando o ATP – 50%, mas gerando também 50% de calor. Em alguns animais hibernantes está presente uma proteína, a **termoginina**, que funciona como uma válvula, regulando a quantidade de energia que irá gerar apenas calor (Figura 4.10).

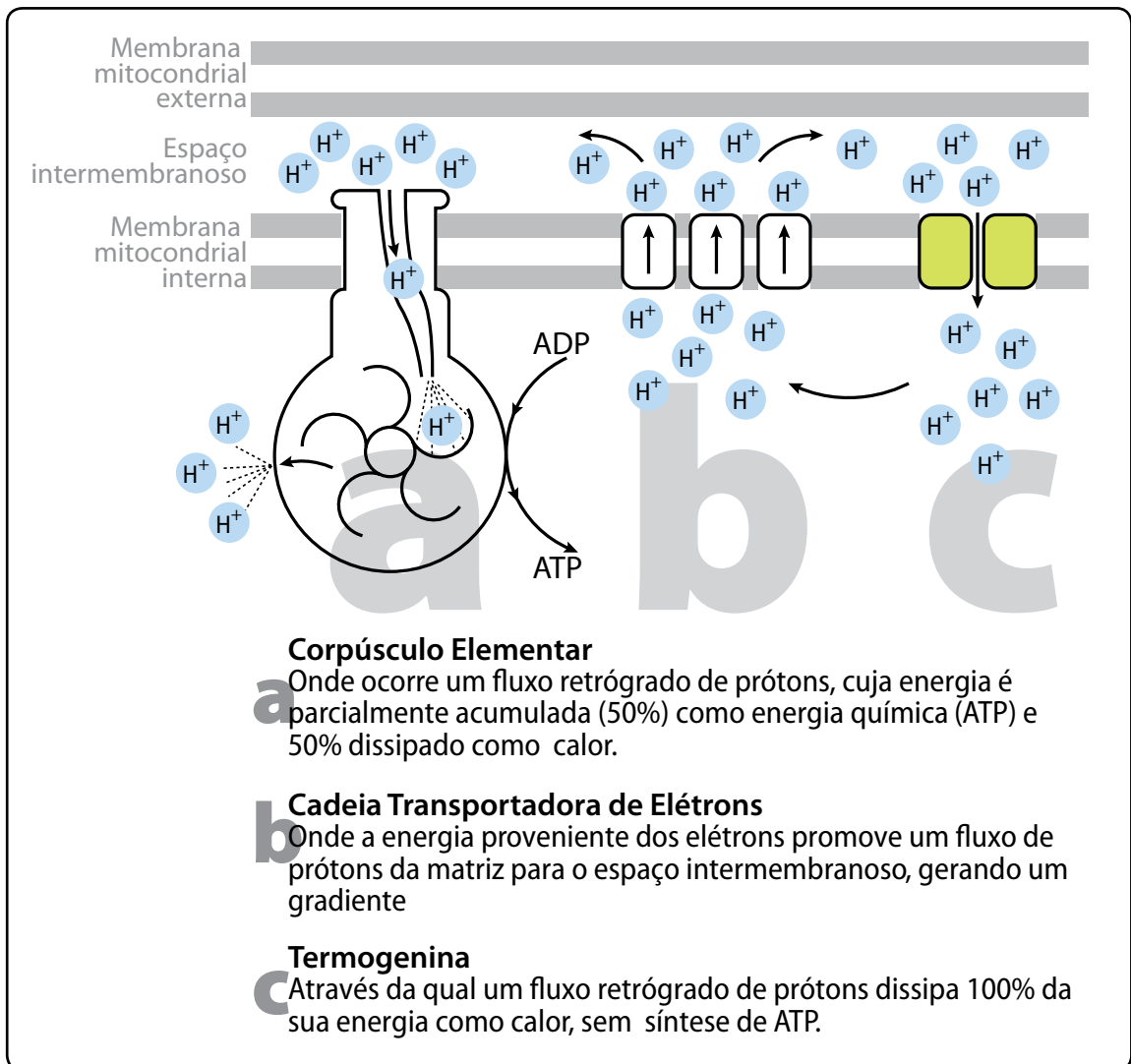


Figura 4.10 - Esquema ilustrando os mecanismos pelos quais a mitocôndria retira energia dos nutrientes, acumulando-a sob a forma de energia química facilmente disponível no ATP. Parte da energia dos nutrientes é, normalmente, dissipada sob a forma de calor. A proteína termoginina pode funcionar como uma espécie de válvula, regulando a quantidade de energia dos nutrientes que vai gerar calor. A termoginina tem papel significativo no despertar dos animais que hibernam, aquecendo o sangue desses animais. O dinitrofenol, substância que inibe a oxidação fosforilativa, é um composto anfipático (prende-se por uma extremidade a uma região hidrofóbica e, pela outra, a uma região hidrofílica) que desorganiza a estrutura da membrana mitocondrial interna, promovendo um fluxo retrógrado de prótons, sem síntese de ATP. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 71).

Essa proteína está presente nas mitocôndrias de um tipo especializado de tecido, chamado **tecido adiposo multilocular**. Essas células são especializadas na produção de calor.

Como já dito anteriormente, as mitocôndrias, assim como os cloroplastos possuem genoma próprio. A célula necessita, continuamente, de novas organelas para atender seu crescimento, bem como a sua multiplicação, ou substituir organelas desgastadas pelo uso. As mitocôndrias (e os cloroplastos também) se originam da divisão das organelas preexistentes. Essas organelas contêm DNA e os três tipos de RNAs (**mRNA**, **rRNA** e **tRNA**). Os DNA das mitocôndrias codificam mRNA formado apenas por éxons, sem íntrons. Esse DNA se replica independentemente do DNA nuclear e forma as proteínas das mitocôndrias, porém não de todas. A maior parte das proteínas mitocondriais são sintetizadas no citoplasma, nos polirribossomos livres, e daí transferidas para a mitocôndria.

Admite-se que, durante o processo evolutivo, as mitocôndrias gradualmente perderam a maior parte do seu genoma, que foi transferido para o núcleo da célula hospedeira, e tornaram-se dependentes das proteínas codificadas pelo genoma do núcleo celular.

Além das funções já mencionadas acima, a mitocôndria é apontada como a principal mediadora da apoptose, isto é, da morte celular programada. Essa organela integra os estímulos de morte celular, induzindo a permeabilidade da membrana da mitocôndria e conseqüente liberação de moléculas pró-apoptóticas nela presentes. Quando sinais de morte alcançam a mitocôndria, levam o colapso do potencial da membrana mitocondrial interna, e uma alteração na permeabilidade mitocondrial. Então, a água passa para a matriz mitocondrial provocando a ruptura da organela e conseqüentemente a liberação de proteínas pró-apoptóticas para o citoplasma. As alterações que ocorrem nas membranas das mitocôndrias leva à perda da homeostasia celular, interrompendo a síntese de ATP e ocorre um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS). Mais informações, estão no capítulo de apoptose.

Uma peculiaridade das mitocôndrias é que elas são exclusivamente de origem materna, ou seja, as mitocôndrias utilizadas na fecundação são as do óvulo e não dos espermatozoides.

4.2.1 Origem das mitocôndrias

A presença do DNA, dos RNAs e de um mecanismo de auto-reprodução por fissão, semelhante ao das bactérias, além de outros dados, sugere a origem das mitocôndrias nas bactérias aeróbias, que estabelecem uma relação **simbiótica** com as células eucariontes. Além disso, os ribossomos das mitocôndrias são semelhantes aos das bactérias, assim como o DNA, que tanto nas mitocôndrias como nas bactérias codificam mRNA sem íntrons. Os ribossomos das mitocôndrias são diferentes dos citossólicos, no tamanho e na composição de RNA e de proteínas, e na sensibilidade a **antibióticos**.

Alguns antibióticos que inibem a síntese protéica nas bactérias inibem também a síntese protéica nas mitocôndrias, mas não a síntese de proteínas nos ribossomos citossólicos.

Durante a evolução bactérias teriam penetrado por fagocitose nas células eucariontes primordiais e escaparam de mecanismos de digestão intracelular de partículas estranhas, tendo estabelecido a endossimbiose, que é uma simbiose intracelular. Pela fagocitose a membrana plasmática da célula hospedeira origina a membrana externa das mitocôndrias, e a membrana interna da bactéria origina a **membrana interna mitocondrial**. Essa endossimbiose trouxe vantagens tanto para as bactérias, que passaram a receber nutrientes e proteção, como para a célula hospedeira anaeróbica, que passou a contar com um sistema mais eficiente de aproveitamento de energia pela fosforilação oxidativa, o que acabou evoluindo para célula eucarionte aeróbica. Como a concentração de oxigênio estava aumentando na atmosfera pela atividade das células fotossintéticas, essa endossimbiose teve ainda a vantagem de oferecer um mecanismo pelo qual a célula hospedeira não somente se torna energeticamente mais eficiente, como ao mesmo tempo, adquire um mecanismo para se livrar do excesso de oxigênio, cujo acúmulo no meio intracelular pode danificar as macromoléculas pela oxidação.

De fato, a membrana interna das mitocôndrias é bastante parecida com a membrana das bactérias, assim como a membrana externa da mitocôndria é semelhante à membrana plasmática das células eucariontes.

4.2.2 Síndromes mitocondriais

As mitocôndrias, organelas essenciais da respiração celular e síntese de ATP, possuem DNA diferente do DNA nuclear, que codifica parte das proteínas da **cadeia respiratória**.

A grande maioria das proteínas mitocondriais, é codificada no núcleo da célula.

O mtDNA é uma pequena molécula circular presente na matriz mitocondrial de 5 a 10 cópias por organela. O número de mutações mtDNA é pelo menos 10 vezes maior do que o DNA nuclear,

além disso, o genoma mitocondrial não possui os mecanismos de correção dessa molécula. São transmitidas às gerações seguintes por herança materna, diferente da herança mendeliana, já que as mitocôndrias são transmitidas ao zigoto apenas pelo óvulo, sem a contribuição do espermatozoide. As mutações mais comuns são pontuais, mas pode haver duplicações e deleções de longos segmentos do mtDNA.

A distribuição das mutações no mtDNA é irregular entre as células. Na multiplicação celular embrionária as mitocôndrias são repartidas entre as células filhas de forma aleatória. Se houver mutações no mtDNA, estas podem afetar só uma parte das organelas e distribuir-se de forma que certas células terão muitas mitocôndrias anormais, outras terão poucas. Se a proporção de organelas com DNA mutante exceder um valor limiar, as mitocôndrias normais serão insuficientes para fornecer energia à célula.

A distribuição das mitocôndrias anômalas é casual nos vários órgãos e tecidos do corpo. Os mais afetados são aqueles de metabolismo oxidativo alto, como SNC, retina, coração, musculatura esquelética e túbulos renais. Pode haver ampla variação e combinação dos sinais e sintomas, originando as **várias síndromes mitocondriais**. Defeitos no mtDNA causadores de doenças são frequentemente herdados, podem surgir espontaneamente em um óvulo ou ainda podem se manifestar no início do desenvolvimento do embrião.

Principais Síndromes Mitocondriais

Existem várias patologias ligadas às mutações que ocorrem no mtDNA, mas do ponto de vista da aplicação clínica, o mais relevante é o que diz respeito às patogenias da Síndromes de Neuropatia óptica de Leber, Kearns-Sayre e a miopatia ocular.

1. Neuropatia óptica de Leber

Trata-se da simples troca de bases (guanina por uma adenina) e como consequência uma troca no aminoácido arginina por histidina. Essa troca aparentemente simples causa um sério dano à atividade enzimática do complexo I das cristas das mitocôndrias. Essa alteração afeta basicamente o nervo óptico, causando um grave dano ao indivíduo que é a cegueira.

2. Miopatia ocular e a Síndrome de Kearns-Sayre

Há sintomas em comum entre essas duas síndromes. Trata-se da oftalmoplegia externa progressiva que é a paralisia dos músculos que controlam o movimento do globo ocular e a proliferação mitocondrial nos músculos esqueléticos.

Síndrome de Kearns-Sayre, apresenta ainda outros sintomas como, estatura baixa, bloqueio na condução do impulso cardíaco, degeneração da retina e, eventualmente distúrbios renais e hormonais e debilidade mental. O período de instalação dessas síndromes é variado, em geral até os 20 anos.

4.3 Peroxissomos

Os peroxissomos são organelas pequenas e delimitadas por uma membrana, contendo várias enzimas envolvidas em uma grande variedade de reações metabólicas (Figura 4.11).

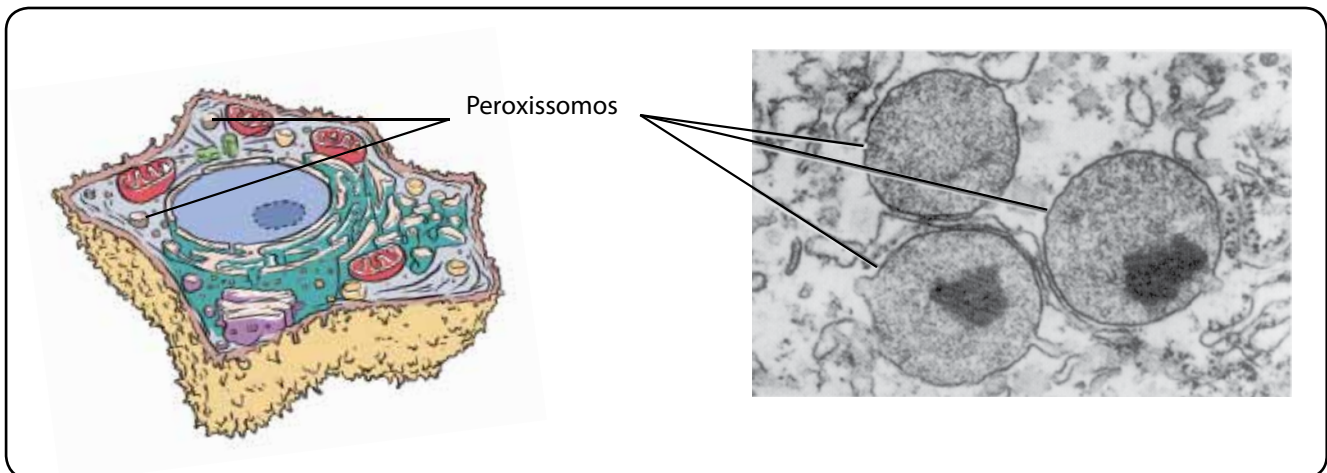


Figura 4.11 - Micrografia eletrônica de peroxissomos de fígado de rato. Dois deles possuem regiões densas, consistindo na enzima urato oxidase em disposição paracristalina. (Ilustração baseada em COOPER, p. 438).

Embora os peroxissomos sejam morfologicamente similares aos lisossomos, eles são montados, como as mitocôndrias e os cloroplastos, a partir de proteínas sintetizadas nos ribossomos livres e importadas como cadeias polipeptídicas completas. Assim como as mitocôndrias e os cloroplastos, os peroxissomos se reproduzem por divisão.

Os peroxissomos possuem cerca de 50 diferentes enzimas envolvidas em uma variedade de rotas bioquímicas em diferentes ti-

pos celulares. Foram definidos originalmente como organelas que realizam reações de oxidação, levando à produção de peróxido de hidrogênio. Como o peróxido de hidrogênio é tóxico para as células, os peroxissomos também produzem a catalase, que decompõe esse composto, convertendo-o em água ou utilizando-o para oxidar outros compostos. Uma grande variedade de substâncias é degradada pelas reações de oxidação nos peroxissomos, entre os quais o ácido úrico, os aminoácidos e os **ácidos graxos**. A oxidação dos ácidos graxos é particularmente importante, uma vez que representa uma das fontes principais de energia metabólica. Nas células animais o colesterol e o dolicol (responsável pela glicosilação inicial) são sintetizados nos peroxissomos e no retículo endoplasmáticos. No fígado os peroxissomos também estão envolvidos na síntese dos ácidos biliares, derivados do colesterol.

Nas células animais, os ácidos graxos são oxidados tanto nos peroxissomos como nas mitocôndrias, mas em leveduras e plantas essa oxidação está restrita aos peroxissomos. Os peroxissomos também estão envolvidos na biossíntese dos lipídios.

No mínimo 17 doenças humanas estão ligadas a disfunções dos peroxissomos, das quais 15 têm algum envolvimento neurológico. Exceto a adrenoleucodistrofia, que é uma doença ligada ao cromossomo autossômico X, as outras 16 restantes são ligadas aos cromossomos autossômicos, e são recessivas. Nessa doença, existe considerável evidência de que o defeito básico envolve a função prejudicada da enzima ácidos graxos de cadeia muito longa-CoA sintetase. Isso leva a um acúmulo anormal de ácidos graxos saturados de cadeias muito longas, e esse acúmulo é mais severo no sistema nervoso central, no córtex da adrenal e nas células de Leydig dos testículos – óleo de Lorenzo (mistura de ácido erúico e de ácido oléico).

Nas plantas os peroxissomos exercem dois importantes papéis. O primeiro ocorre nas sementes das plantas, cujos peroxissomos são os responsáveis pela conversão dos ácidos graxos (gorduras) em carboidratos, que irá fornecer energia e matéria-prima para o crescimento da planta germinada. Isso ocorre devido a uma série de reações químicas, conhecidas como o **ciclo do glioxilato**, uma variante do ciclo de Krebs nas mitocôndrias. Devido a isso, os peroxissomos nos quais esse ciclo ocorre são chamados de glioxissomos (Figura 4.12).

O segundo ocorre nos peroxissomos das folhas das plantas que estão envolvidas na fotorrespiração e serve para metabolizar produtos secundários formados durante a fotossíntese.

A montagem dos peroxissomos é essencialmente similar à das mitocôndrias e dos cloroplastos, mas diferentes do que ocorre no retículo endoplasmático, no complexo de Golgi e nos lisossomos. As proteínas destinadas aos peroxissomos são traduzidas nos ribossomos citosólicos livres e importadas como cadeias polipeptídicas completas. Da mesma forma os fosfolipídios, que são sintetizados no retículo endoplasmáticos, são transferidos para os peroxissomos. A importação das proteínas e dos fosfolipídios resulta no crescimento dos peroxissomos, que se dividem, formando os novos peroxissomos.

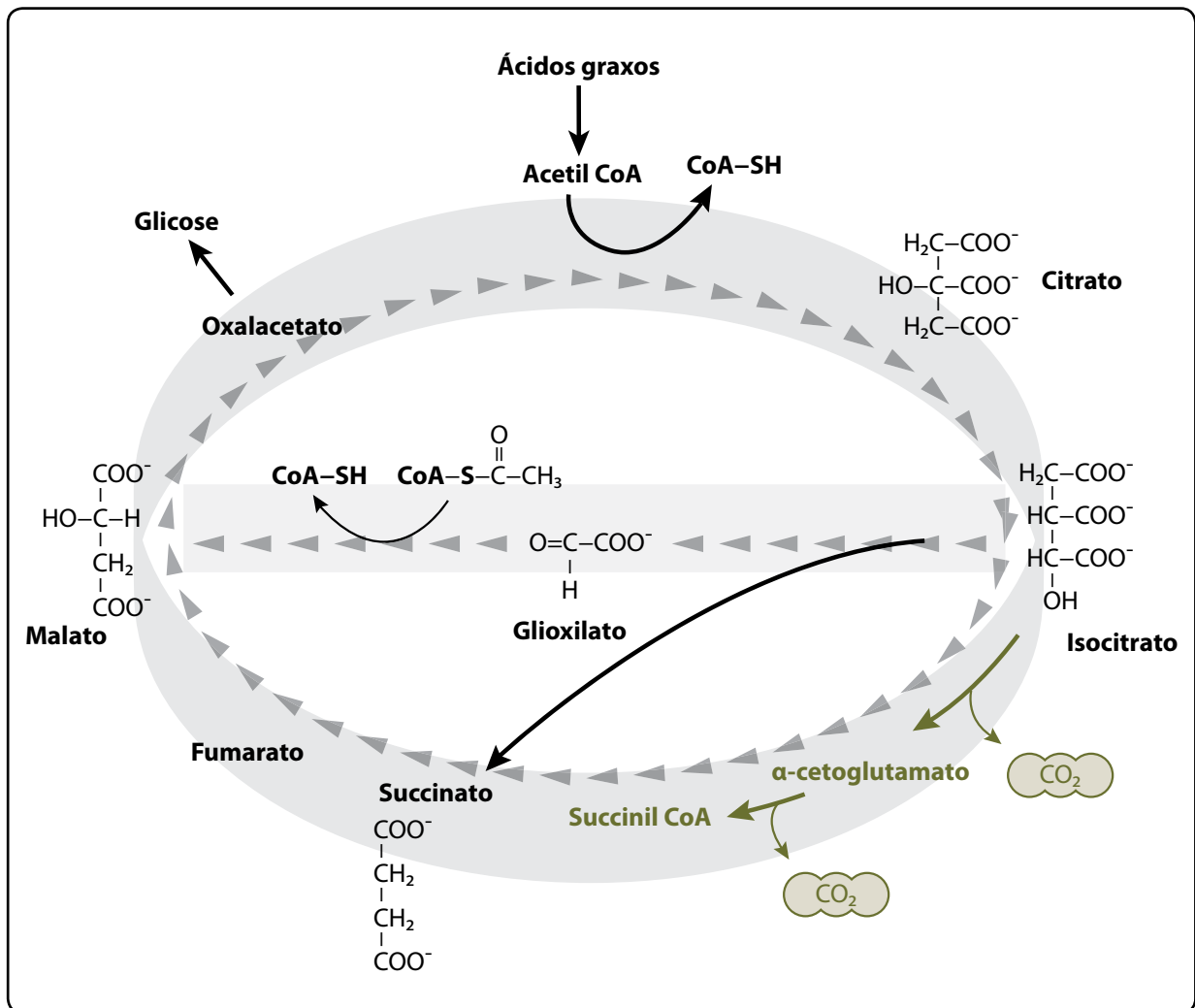
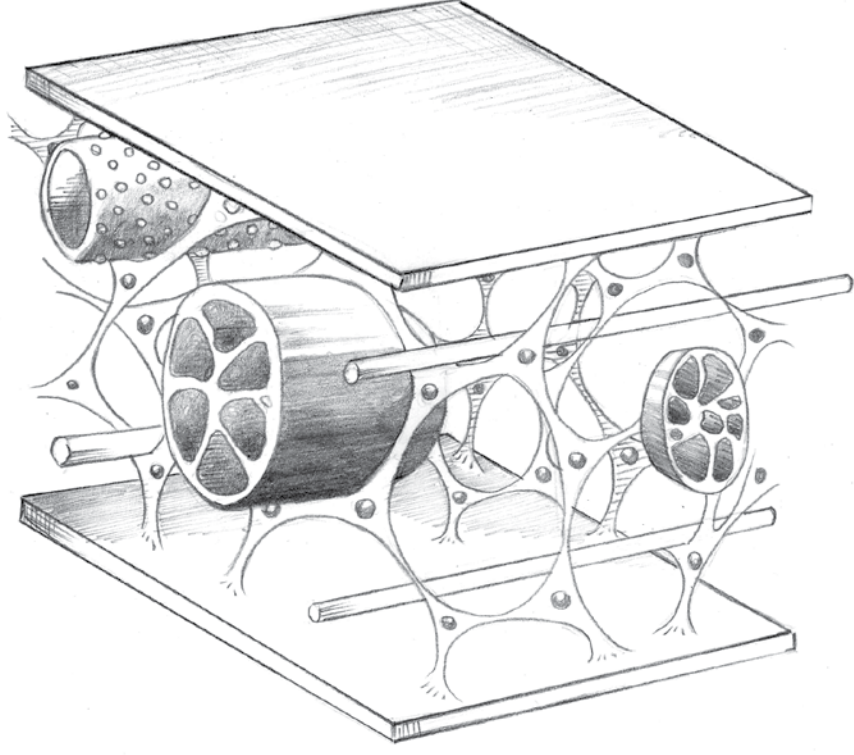


Figura 4.12 - O ciclo do glicoxilato. As plantas sintetizam carboidratos a partir de ácidos graxos através do ciclo do glicoxilato, uma variante do ciclo do ácido cítrico. Acetil CoA combina-se com o oxalacetato formando citrato, que é convertido em isocitrato, como no ciclo do ácido cítrico. Contudo, em vez de ser degradado em CO_2 e α -cetoglutarato, o isocitrato é convertido em succinato e glicoxilato. O glicoxilato reage com outra molécula de acetil CoA, formando malato, que é convertido em oxalacetato e utilizado na síntese de glicose. (Ilustração baseada em COOPER, p. 439).

Resumo

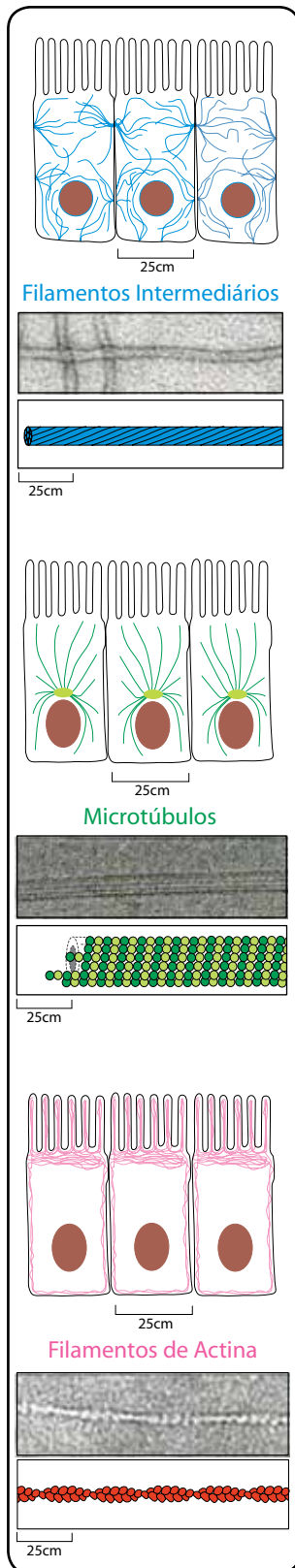
As células eucariontes apresentam organelas citoplasmáticas que possuem compartimentos especializados e que apresentam diversas atividades metabólicas. A geração de energia metabólica é a principal atividade de todas as células e duas organelas se dedicam especificamente ao metabolismo energético e à produção de ATP. São as mitocôndrias, que produzem energia derivada da quebra de lipídeos (gorduras) e carboidratos (açúcares), produzindo NADH e FADH₂, que irão para a cadeia transportadora de elétrons, onde, por uma reação, produzem o ATP e o calor. Pelo fato de as mitocôndrias possuírem um prolongamento de sua membrana interna (as cristas), se cria uma enorme superfície, na qual se prendem, em seqüência predeterminada, moléculas enzimáticas e transportadoras. Dessa forma, os substratos são processados por diversos componentes da cadeia enzimática sem que haja necessidade de grandes deslocamentos, o que diminuiria a rapidez e o rendimento dos processos metabólicos. Além disso, o produto resultante da ação de uma enzima geralmente é o substrato para a enzima subsequente. Uma segunda organela, os peroxissomos, contém enzimas envolvidas em uma grande variedade de rotas metabólicas, entre as quais a degradação dos ácidos graxos, além de possuir enzimas necessárias para a transformação da água oxigenada (H₂O₂), que é tóxica para a célula em água. Além disso, as modificações ou a ausência das enzimas dos peroxissomos poderão determinar uma série de doenças, entre as quais a adrenoleucodistrofia (óleo de Lorenzo).

CAPÍTULO 5



Citoesqueleto

Neste capítulo, estudaremos os componentes do citoesqueleto, sua organização estrutural e funcional. Também estudaremos os diferentes movimentos celulares e intracitoplasmáticos, relacionando-os com os elementos do citoesqueleto.



5.1 Introdução

As organelas envolvidas por membrana constituem um nível de organização subestrutural das células eucarióticas. Outro nível de organização é dado pelo citoesqueleto, que é constituído por filamentos protéicos, que se prolongam pelo citoplasma de todas as células eucarióticas. O citoesqueleto forma uma rede estrutural que serve de sustentação e define o formato e a organização geral do citoplasma. Além de desempenhar função estrutural, o citoesqueleto é responsável pelos movimentos celulares como um todo e também das organelas. Nas células animais, nas quais, ao contrário das vegetais, não existe um exoesqueleto formado por uma parede celulósica, a presença de uma estrutura interna que desempenhe funções atribuídas ao esqueleto, nomeadamente a manutenção da forma, assume uma importância relevante.

Adiciona-se o fato de que os elementos citoesqueléticos desempenham ainda outras funções relacionadas com a motilidade celular, como a promoção e a orientação dos fluxos citoplasmáticos e de deslocação de vesículas de secreção, a endocitose, os movimentos dos cromossomas por ocasião da divisão, os movimentos amebóides, o funcionamento de cílios e flagelos, etc.

O citoesqueleto é composto por três tipos de **filamentos protéicos: filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários** (Figura 5.1).

Figura 5.1 - Os três tipos de filamentos proteicos que formam o citoesqueleto. As células desenhadas representam o epitélio de revestimento do intestino (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 527).

5.2 Estrutura e organização dos filamentos de actina

A principal proteína do citoesqueleto é a actina, que, quando polimerizada, forma os filamentos de actina finos e flexíveis que medem aproximadamente 7nm de diâmetro e vários micrômetros de comprimento.

A célula é percorrida por vários tipos de filamentos protéicos, formando uma rede tridimensional que confere a sua forma e, de certa maneira, a sua sustentação. Basicamente, existem três tipos de filamentos que compõem o citoesqueleto: actina, microtúbulos e filamentos intermediários.

Unidades protéicas simples **actina G** polimerizam-se para formar filamentos uniformes **actina F**. A unidade monomérica, em presença de ATP, associa-se espontaneamente, formando um polímero linear e helicoidal. Polimerização e despolimerização ocorrem simultaneamente, porém de uma maneira ordenada e eficiente (Figura 5.2).

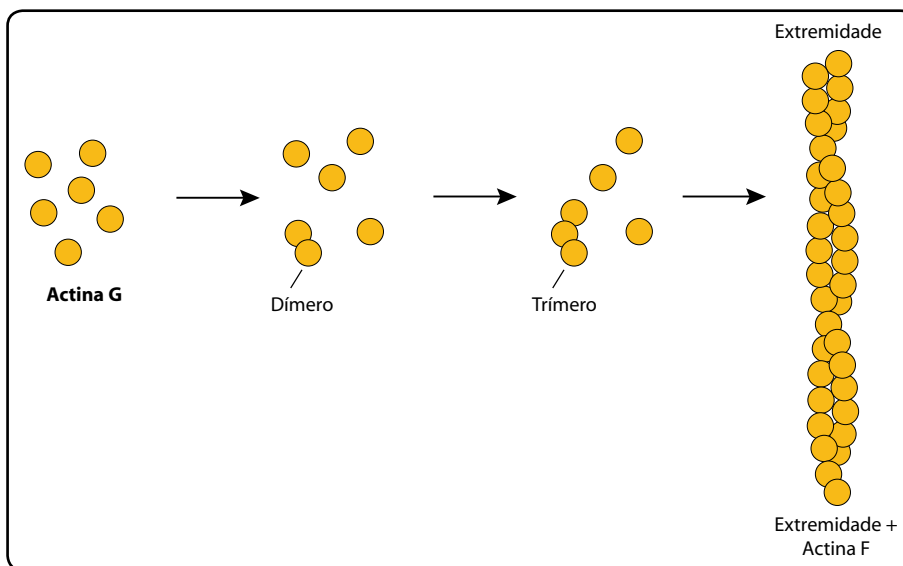


Figura 5.2 - Arranjo e estrutura dos filamentos de actina. Monômeros de actina (actina G) polimerizam-se, formando os filamento de actina (actina P). Inicialmente, ocorre a formação de dímeros e trímeros, que crescem pela adição de monômeros em ambas as extremidades (Ilustração baseada em COOPER, p. 446).

Dentro das células, os filamentos de actina, denominados de microfilamentos, estão arrançados de maneira extremamente or-

ganizada, formando feixes ou redes tridimensionais. Os filamentos de actina são particularmente abundantes junto à membrana plasmática, onde formam uma rede que é responsável pelo suporte mecânico, que determina a forma celular e possibilita o movimento da superfície da célula, permitindo a migração, a internalização de partículas e a divisão citoplasmática. Os filamentos de actina dão suporte a expansões permanentes do citoplasma, como as microvilosidades, ou participam de expansões temporárias que são responsáveis pela fagocitose ou pela locomoção celular.

5.3 Interação actina-miosina e movimento celular

O tipo de movimento que mais se destaca é a contração muscular. A contração muscular resulta do deslizamento entre os feixes de actina e os filamentos de miosina.

Os filamentos de actina geralmente estão associados com a miosina e são responsáveis por uma série de movimentos celulares. A miosina é uma proteína que converte energia química ATP em energia motora, gerando, assim, força para o **movimento**. A hidrólise do ATP fornece energia para repetidos ciclos de interação entre a miosina e a actina, nos quais as alterações conformacionais resultam em movimento dos grupos de cabeças da miosina ao longo dos filamentos de actina (Figura 5.3).

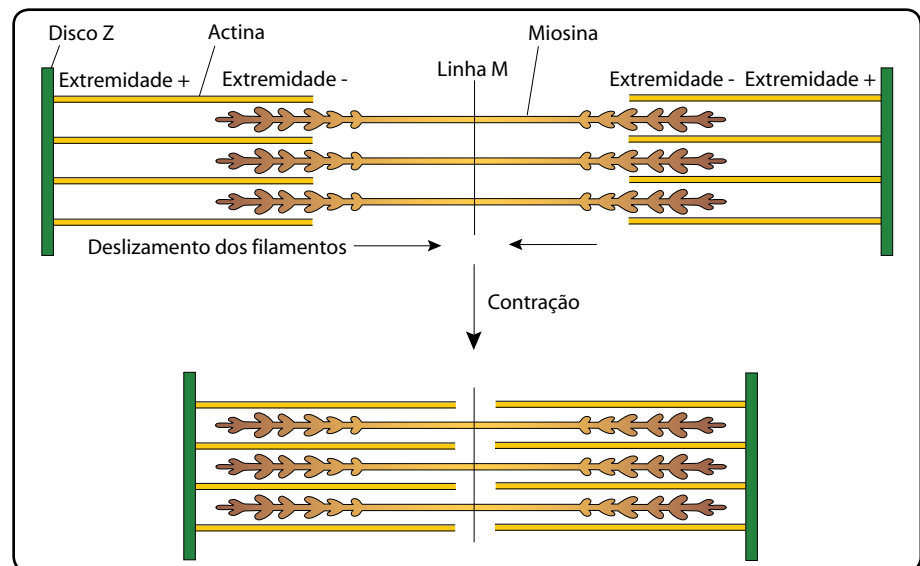


Figura 5.3 - Modelo dos filamentos deslizantes para a contração muscular. Os filamentos de actina deslizam sobre os filamentos de miosina em direção ao centro do sarcômero. Isto resulta em uma diminuição do sarcômero sem que tenham ocorrido alterações no comprimento dos filamentos (Ilustração baseada em COOPER, p. 459).

A miosina tem a capacidade de deslizar ao longo de filamentos de actina, com gasto de ATP, além de se ligar a diversas organelas. Com isso, a miosina promove a movimentação das organelas, além de promover uma corrente no citosol, o que ajuda na distribuição de inúmeras substâncias. Um fenômeno bem conhecido nos vegetais é a ciclose.

Um caso particular da organização actina-miosina ocorre nas células de músculos esqueléticos, nas quais filamentos espessos de miosina permanecem estacionários, enquanto finos filamentos de actina deslizam, promovendo o fenômeno da contração (Figura 5.4).

5.4 Microtúbulos

Os microtúbulos são cilindros ocos de aproximadamente 25nm de diâmetro. Assim como os filamentos de actina, os microtúbulos são estruturas dinâmicas, que estão em constante processo de montagem e desmontagem dentro das células. Eles agem definindo a forma celular e estão envolvidos com uma variedade de movimentos celulares, tais como locomoção, transporte intracelular e separação de cromossomos durante a mitose.

Os microtúbulos são formados pela polimerização da proteína tubulina. Subunidades alfa e beta da tubulina formam dímeros que, por sua vez, formam filamentos delgados constituídos por 13 protofilamentos associados, lado a lado, formando um cilindro oco, o microtúbulo (Figura 5.5).

Assim como a miosina pode associar-se e deslizar sobre a actina, a cinesina e a **dineína** podem deslizar, também com gasto de ATP, por microtúbulos (Figura 5.6).

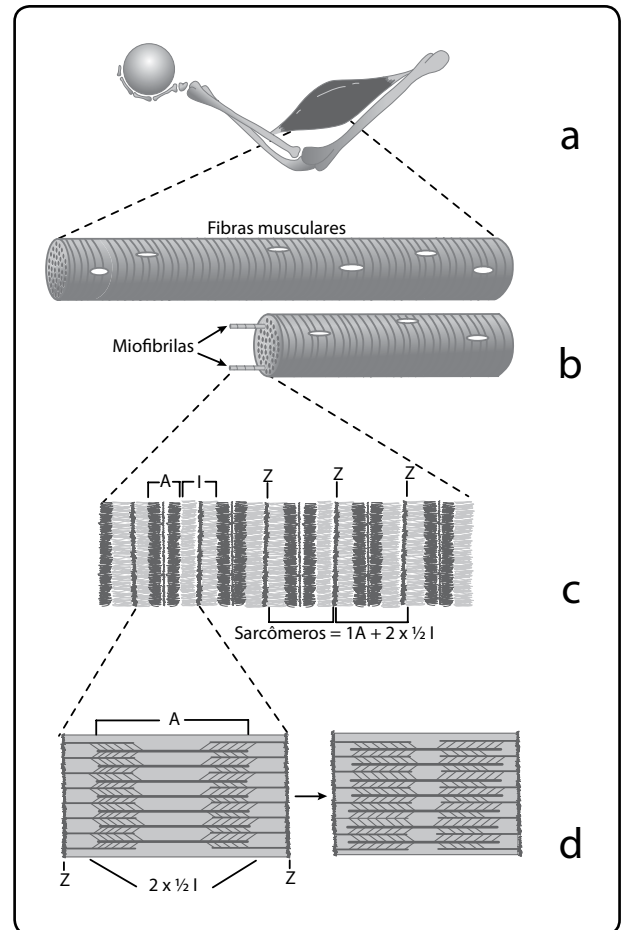


Figura 5.4 - Desenho ilustrando a estrutura do tecido muscular estriado esquelético e o mecanismo de contração. O músculo (A) é formado por feixes de fibras musculares. Cada fibra é um sincício multinucleado contendo fibrilas e é formado por unidades que se repetem, os sarcômeros (C), limitados lateralmente pelas estrias Z. Em (D), a ultra-estrutura de cada sarcômero, mostrando os filamentos finos de actina que imbricam com os filamentos grossos de miosina. Os filamentos grossos formam uma banda escura, a banda A. De cada lado da banda A, o desenho mostra uma semibanda I, clara, e a estria Z. À esquerda, sarcômero de músculo contraído. Dá-se a contração devido ao deslizamento dos filamentos finos sobre os filamentos grossos. Observa-se as pontas que se estabelecem entre os filamentos. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 125).

O movimento de cílios e flagelos, por exemplo, está relacionado com o deslizamento de dineína sobre os microtúbulos.

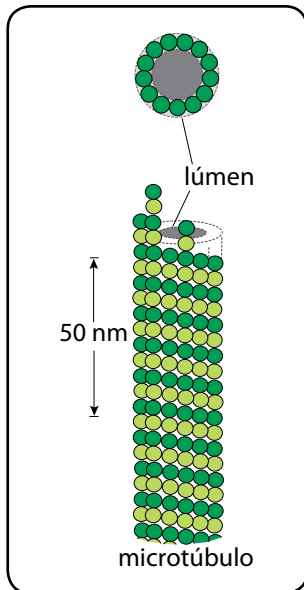


Figura 5.5 - Estrutura dos microtúbulos. Os dímeros de α e β -tubulina polimerizam-se para formar os microtúbulos, que são formados por 13 protofilamentos organizados em torno de um orifício central. (Ilustração baseada em COOPER, p. 470).

Os microtúbulos têm especial importância na constituição do fuso mitótico, promovendo a separação das cromátides irmãs.

Os dímeros de tubulina podem despolimerizar-se, assim como polimerizar-se, realizando rápidos ciclos de arranjo e despolimerização.

Quando uma célula é tratada com **colchicina** ou **colcemide**, drogas experimentais que impedem a polimerização da tubulina, a mitose é bloqueada. Outras duas drogas semelhantes, a **vincristina** e a **vinblastina**, são utilizadas na quimioterapia contra o câncer, pois inibem rapidamente as divisões celulares. Há ainda o **taxol**, uma droga que estabiliza os microtúbulos, bloqueando a divisão celular, sendo também usado como um agente anticâncer.

5.4.1 Microtúbulos e movimentos

Os microtúbulos são responsáveis por uma variedade de movimentos celulares, incluindo o transporte e o posicionamento de vesículas membranosas e organelas, a separação dos cromossomos na mitose e o batimento dos cílios e flagelos.

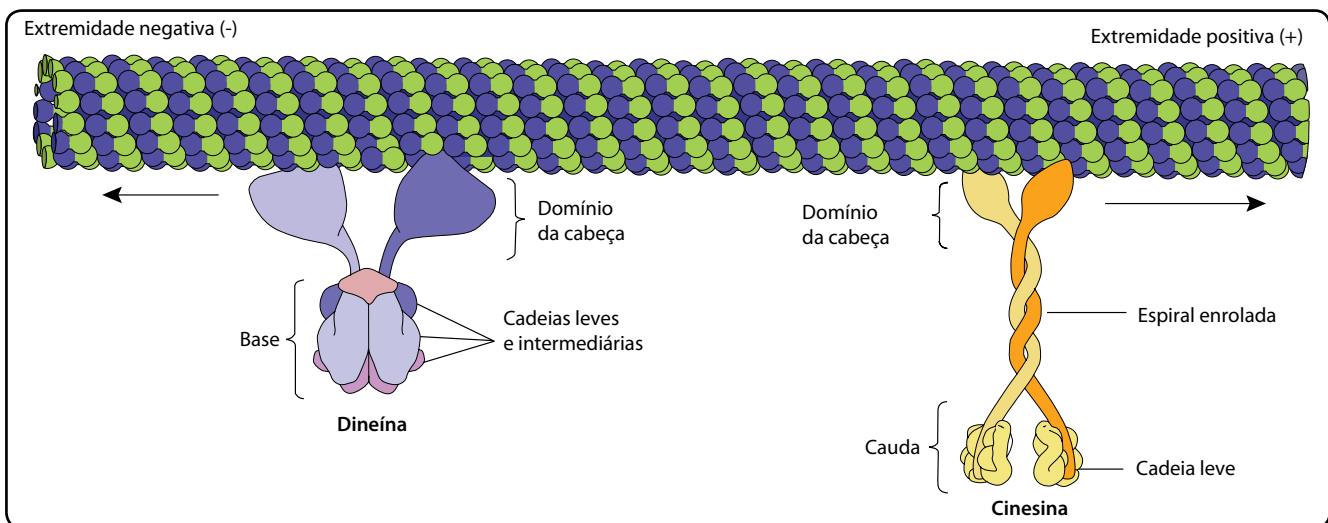


Figura 5.6 - Proteínas motoras associadas aos microtúbulos. As cinesinas e as dineínas movem-se em direções opostas ao longo dos microtúbulos, rumo às extremidades positivas e negativas, respectivamente. A cinesina é composta por duas cadeias pesadas enroladas e duas cadeias leves. Os domínios globulares das cabeças das cadeias pesadas ligam-se aos domínios motores das moléculas. A dineína é constituída por duas ou três cadeias pesadas (o esquema a seguir ilustra a proteína com duas cadeias pesadas) em associação com múltiplas cadeias leves e cadeias intermediárias. Os domínios globulares das cabeças das cadeias pesadas são domínios motores. (Ilustração baseada em COOPER, p. 470).

1. Separação dos cromossomos mitóticos: Os microtúbulos se reorganizam no início da mitose para formar o fuso mitótico, que desempenha papel fundamental na divisão celular, através da distribuição dos cromossomos duplicados para o núcleo-filho. A separação dos cromossomos resulta de uma série de tipos de movimentos, dos quais diferentes classes de feixes de microtúbulos e proteínas motoras participam (Figura 5.7).

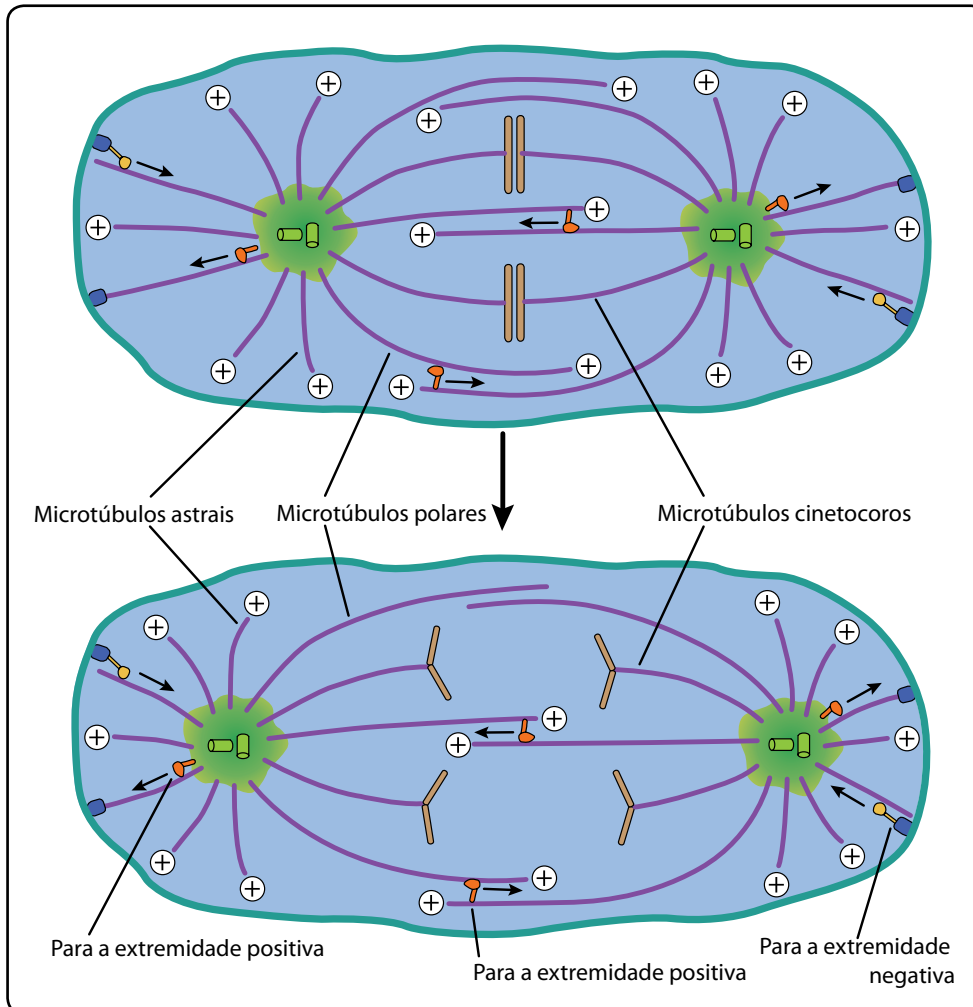


Figura 5.7 - Separação dos pólos dos fusos na anáfase B. A separação dos pólos do fuso resulta de dois tipos de movimentos. Inicialmente, os microtúbulos polares deslizam uns sobre os outros, empurrando os fusos para os pólos opostos, provavelmente como resultado da ação de proteínas motoras que migram em direção às extremidades positivas. Em segundo lugar, podemos destacar que os fusos são empurrados para pólos opostos por microtúbulos astrais. A força motriz, para este fenômeno, pode ser tanto oriunda das proteínas motoras que migram para as extremidades negativas, e que se encontram ancoradas em estruturas no citoplasma, como o cortex celular, quanto proveniente das proteínas motoras que migram para as extremidades positivas, que se encontram associadas com o pólo do fuso (Ilustração baseada em COOPER, p. 482).

2. Estruturas formadas por microtúbulos: cílios, flagelos e centríolos: Os cílios e flagelos são projeções da membrana plasmática, sustentada por microtúbulos, responsáveis por uma variedade de movimentos das células eucarióticas (Figura 5.8). São estruturas com diâmetro de $0,25\mu\text{m}$ aproximadamente. Os **cílios** batem em um movimento de vaivém coordenado, que tanto movimenta as células através dos fluidos como movimenta os fluidos sobre a superfície das células. Os **flagelos** se diferenciam dos cílios por seu comprimento e seu movimento ondulatório ou batimento. As células normalmente possuem somente um ou dois flagelos, que são responsáveis pela locomoção.

A estrutura principal, tanto dos cílios como dos flagelos, é o **axonema**, formado por microtúbulos e suas proteínas associadas (Figura 5.9). Os microtúbulos são organizados em uma forma característica de 9+2, na qual o par central de microtúbulos é envolvido por nove duplas externas de microtúbulos. Os pares de microtúbulos periféricos são conectados ao par central por uma proteína chamada **nexina**. Além disso, dois braços de **dineína** estão aderidos ao microtúbulo A, e é a atividade motora destas dineínas que controla o batimento dos cílios ou flagelos.

Cada célula possui um par de centríolos, dispostos perpendicularmente um ao outro, localizados próximos ao núcleo, numa região denominada **centrossomo**. O centrossomo, que, em algumas células, não contém **centríolos**, é constituído por um material amorfo de onde se originam os microtúbulos. Estes microtúbulos estão dispostos em nove feixes, cada um com três microtúbulos paralelos unidos entre si (Figura 5.10).

Os corpúsculos basais de onde se organizam os microtúbulos que formam os cílios e flagelos têm a mesma estrutura dos centríolos.

Exemplo: o protozoário *Paramecium* e as células ciliadas do trato respiratório.

Exemplo: protozoários e espermatozoides.

O microscópio eletrônico mostrou que cada centríolo é um cilindro oco com 150nm de diâmetro e 300 a 500nm de comprimento, constituído por um conjunto de 27 microtúbulos.

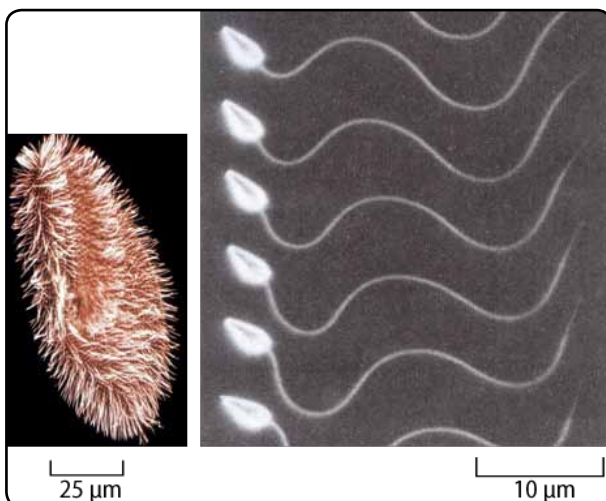
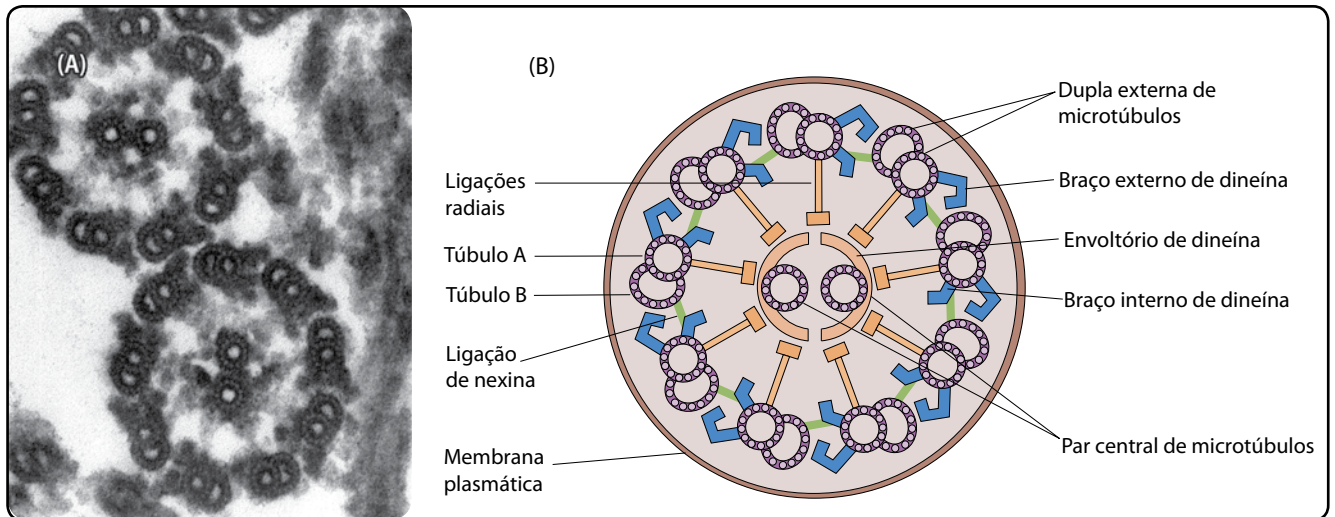


Figura 5.8 - Exemplos de cílios e flagelos. (A) Micrografia eletrônica de varredura mostrando numerosos cílios cobrindo a superfície de um *Paramecium*. (B) Micrografia eletrônica de varredura da superfície de células epiteliais ciliadas da superfície de traquéia. (COOPER, p. 483).

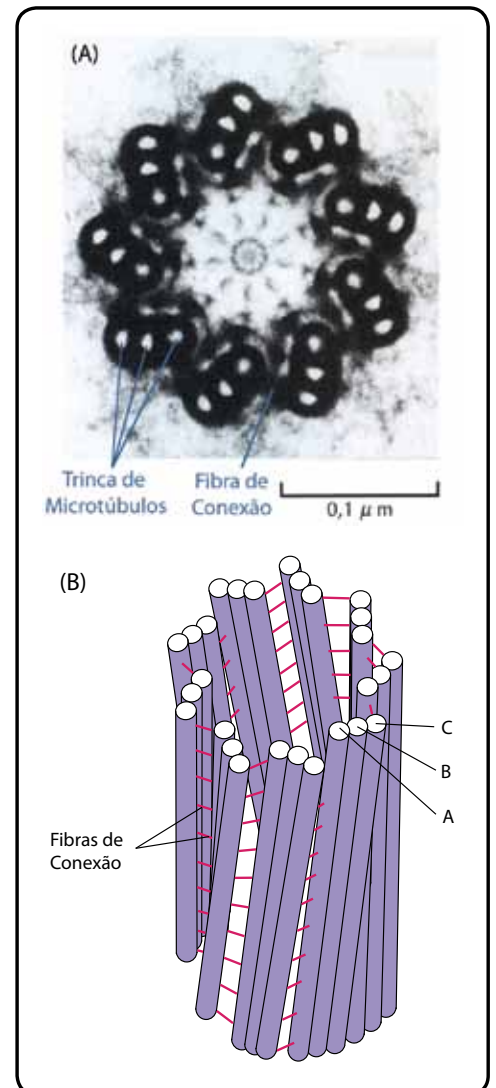


5.5 Filamentos intermediários

Os filamentos intermediários têm grande resistência à tração e sua função principal é permitir que as células suportem grandes pressões mecânicas geradas quando estão sob estresse.

Os filamentos intermediários englobam uma série de tipos de filamentos protéicos com funções específicas em diversos tipos celulares, como os neurofilamentos, que fornecem rigidez ao axônio, e os filamentos de queratinas, presentes em diversas células dos vertebrados.

Figura 5.10 - Estrutura do corpúsculo basal e centríolo. (A) Corte da região proximal do corpo basal de um flagelo. (COOPER, p. 473). (B) Figura esquemática de centríolo ou corpúsculo basal (Ilustração baseada em DARNELL, p. 842).

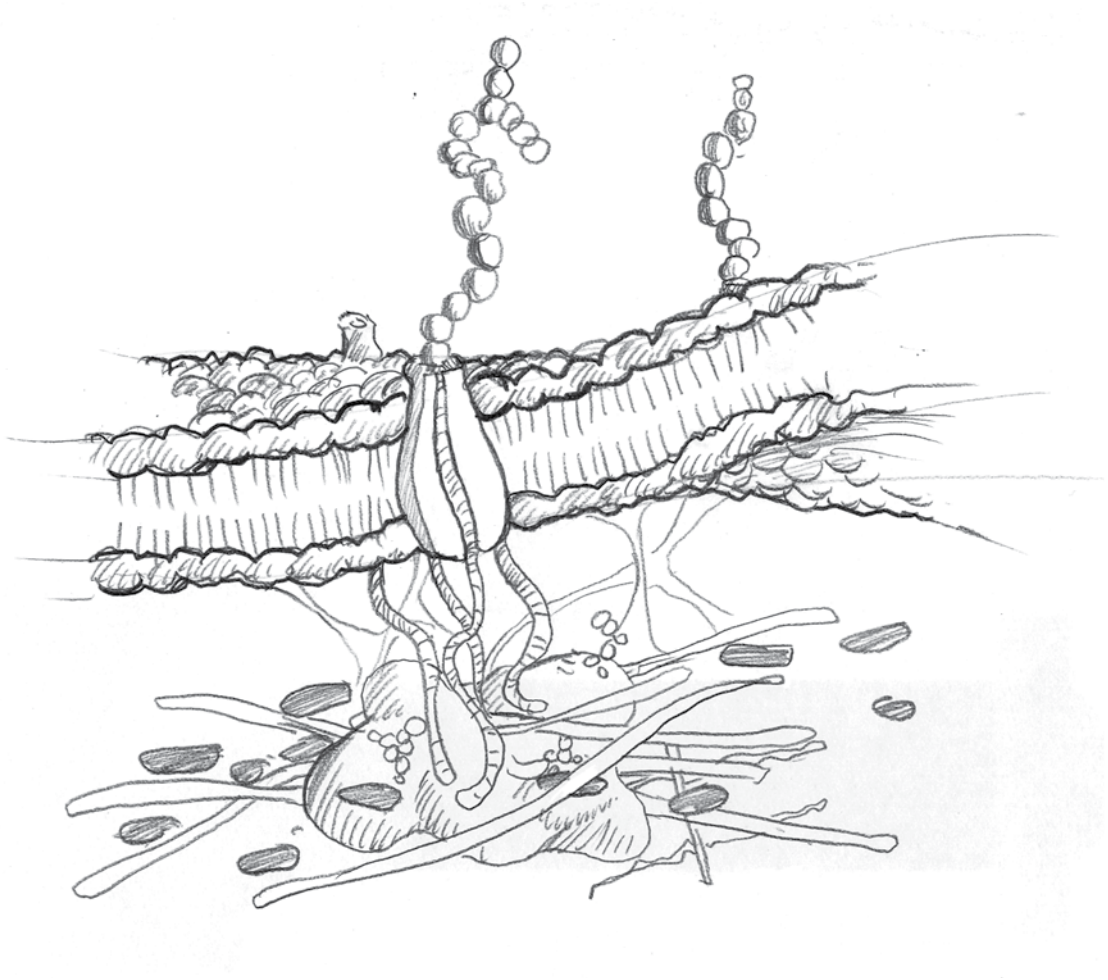


Resumo

Uma característica das células eucarióticas é possuir um citoesqueleto celular, que é responsável pelos movimentos das células e pela manutenção da forma celular. O citoesqueleto é composto pelos microtúbulos, que irão formar o axonema, a estrutura responsável pela movimentação dos espermatozoides e dos cílios, os filamentos intermediários e os microfilamentos de actina e miosina, responsáveis pela contração muscular. Algumas destas estruturas do citoesqueleto são responsáveis, também, pela forma das células. Os microtúbulos e microfilamentos, juntamente com algumas proteínas motoras, participam dos movimentos celulares e dos deslocamentos intracelulares de organelas e vesículas, contendo moléculas diversas, como as vesículas de secreção, além de participarem da manutenção da forma de algumas organelas, como as lâminas nucleares no núcleo. Os movimentos que levam à modificação da morfologia celular resultam da interação dos filamentos da actina com os filamentos da miosina. Todos os tipos de movimentos celulares consomem energia, que é obtida dos nutrientes e disponibilizada para estes movimentos na forma ATP.

As células, além de possuírem um citoesqueleto, quando formam um tecido, apresentam uma rede complexa de macromoléculas que constituem a chamada matriz extracelular.

CAPÍTULO 6



Célula – Matriz Extracelular

Neste capítulo, estudaremos a matriz extracelular, identificando-a e caracterizando-a morfolologicamente. Além disso, vamos identificar os principais componentes da matriz extracelular e suas funções.

Matriz extracelular

Rede complexa de polissacarídeos (como glicosaminoglicanos ou celulose) e proteínas (como colágeno) secretadas pela célula. Um componente estrutural do tecido que também influencia no seu desenvolvimento e fisiologia.

Como sabemos, os tecidos, tanto o animal como o vegetal, não são constituídos somente por células. Entre elas, existe um espaço extracelular normalmente preenchido por uma complexa rede de macromoléculas, que é a **matriz extracelular**. Essa matriz extracelular é de fundamental importância para as funções desses tecidos, ocupando o espaço entre as células, interligando-as e mantendo-as unidas entre si. Os tecidos, portanto, não são compostos somente de células com sua composição interna de filamentos do citoesqueleto, mas também de matriz extracelular, que irá ser a responsável pela sustentação desses tecidos (Figura 6.1).

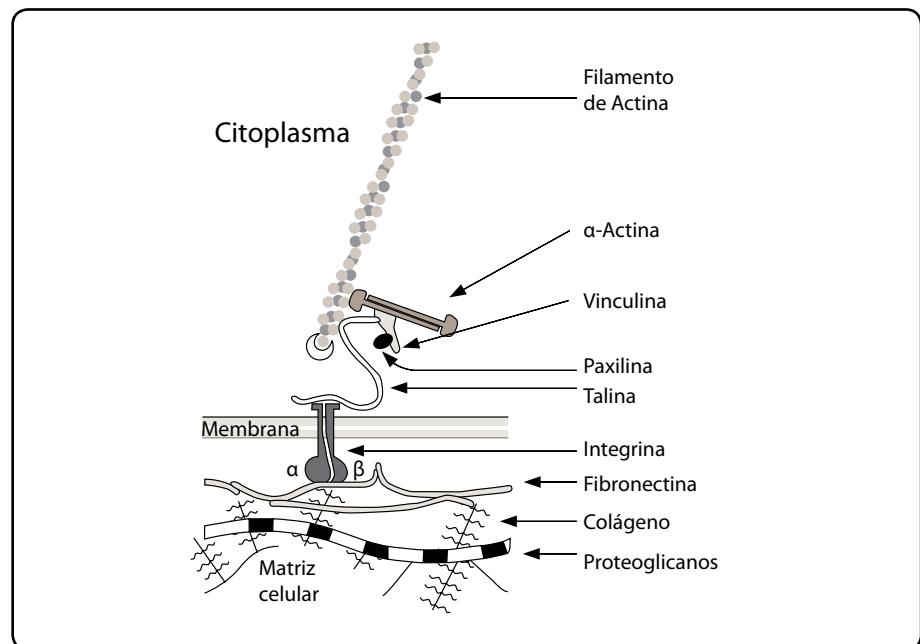


Figura 6.1 - Desenho esquemático ilustrando os componentes da matriz extracelular e a interação da membrana plasmática com a matriz e desta com proteínas do citoesqueleto.

A matriz extracelular é constituída por componentes fibrilares (diversos tipos de **colágenos** e as **fibras elásticas**) e por componentes não fibrilares (**glicoproteínas** como a **fibronectina** e a **laminina**), e quando associados às proteínas, formam as **glicosaminoglicanas**. Além das proteínas e polissacarídeos de estrutura fibrosa, a matriz extracelular contém proteínas de adesão que ligam componentes da matriz entre si e às células aderentes.

A diversidade de tecidos existentes não só se deve às variações na qualidade e quantidade de células e da matriz, mas também ao modo como essa matriz se organiza. Dependendo da organização da rede, isto é, da matriz extracelular, as células podem apresentar uma grande diversidade não só na sua morfologia, como também no aspecto funcional e patológico nos diferentes tecidos.

A quantidade de matriz vai depender do tipo de tecido. Em alguns tecidos, tais como o tecido conjuntivo (ósseo ou tendões), a matriz extracelular é abundante, enquanto que no tecido muscular e nervoso a matriz extracelular é escassa. A diferença entre os vários tipos de matriz extracelular resulta da variação dos seus componentes. Por exemplo, tendões contêm altas quantidades de proteínas fibrosas, já a cartilagem contêm uma alta quantidade de polissacarídeos. No tecido ósseo, há uma deposição de cristais de fosfato de cálcio na matriz. Na matriz extracelular dos tecidos animais, a principal proteína estrutural é o colágeno.

A matriz extracelular, além das funções acima mencionadas, exerce uma série de outras funções que são muito importantes para o nosso organismo. Dentre essas funções, podemos citar: conferir resistência mecânica, atuar como receptores de moléculas de sinalização (possuem sítios de ligação específicos) com objetivo de encontrar moléculas em determinados locais, promover ancoragem celular, construir um meio **homeostático**, dificultar a penetração de microrganismos nos tecidos, digerir macromoléculas da matriz, facilitando a sua penetração nos tecidos, o controle nas hemorragias, a relação com células de tumores malignos de origem epitelial que devem atravessar as lâminas basais dos epitélios e as lâminas basais dos capilares para penetrarem

na corrente sanguínea ou linfática (**metástase**). Portanto, a matriz extracelular tem significado muito amplo nos tecidos, participando da manutenção da estrutura, do desenvolvimento embrionário e pós-natal, da regeneração, da nutrição e também dos processos patológicos.

Nas células vegetais, a parede celular é um tipo de matriz extracelular, que é secretada pela própria célula. Sem a presença da parede celular, a célula vegetal se torna fraca e muito vulnerável. Seu citoesqueleto não possui os filamentos intermediários, que são os responsáveis em suportar a tensão encontrada nas células animais. Com isso, a presença da parede celular nas células vegetais se torna essencial, não só para a proteção da célula, mas também para dar a forma a ela.

No tecido conjuntivo, a presença da matriz extracelular é abundante e suporta a força mecânica. Já no tecido epitelial, a matriz é escassa. Em todos esses tecidos, a resistência, seja ela grande ou pequena, é fornecida não por um polissacarídeo, como nas células vegetais, mas por uma molécula chamada de **colágeno**. Os vários tipos de tecidos conjuntivos devem seus caracteres específicos não só ao tipo de colágeno que compõe a sua matriz, mas também a sua quantidade e proporções, e principalmente à associação com outros tipos de moléculas existentes.

Na pele, por exemplo, o colágeno está organizado em um padrão de trama, ou em camadas alternadas, com diferentes orientações, de modo a resistir ao estresse mecânico. Já nos tendões, ele está alinhado em feixes paralelos. Os **fibroblastos** são os responsáveis pela produção e secreção do colágeno e também pela modelação das matrizes de colágeno desses tecidos.

As **integrinas** são proteínas receptoras, encontradas em toda a superfície da membrana plasmática, que atuam como receptores da matriz e conectam a matriz ao citoesqueleto. Estas moléculas estão ligadas, no domínio extracelular, com a **fibronectina**, enquanto que no meio intracelular elas se ligam a filamentos de **actina**. Assim, em vez de arrancada da membrana quando existir uma

tensão entre a célula e a matriz, a molécula de integrina transmite o estresse da matriz para o citoesqueleto. As células musculares ligam seus elementos de maneira similar à matriz extracelular na junção entre o músculo e tendão.

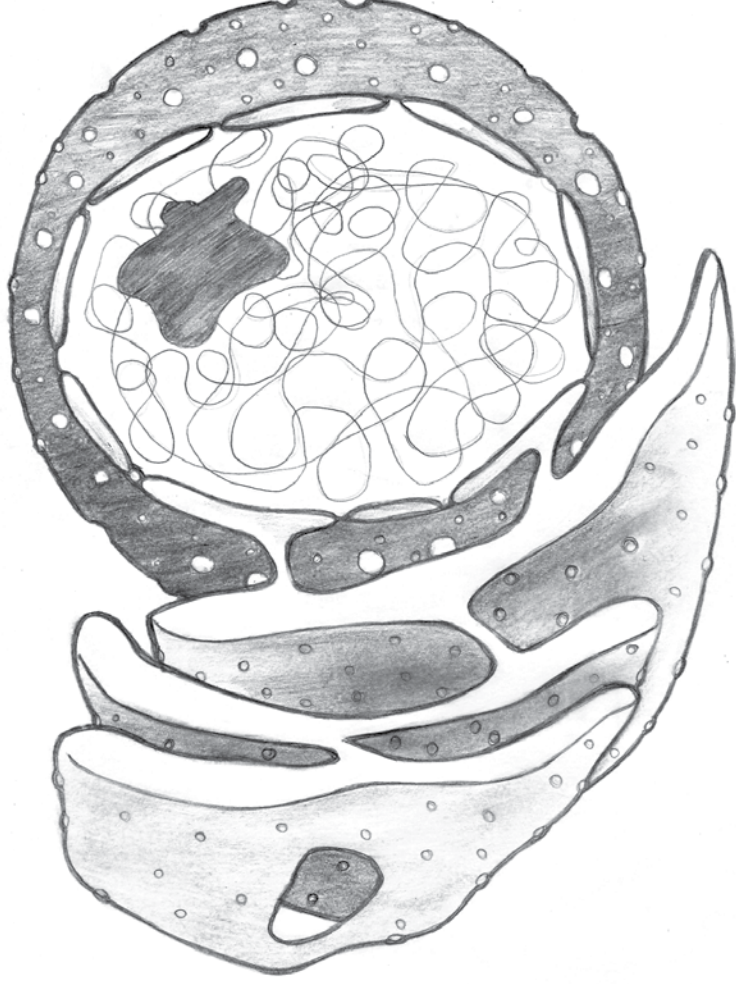
Mutações genéticas podem levar as células a produzir **colágeno** de forma alterada, ou até mesmo a sua não produção. Essas mutações podem ter implicações muito significativas para os organismos. Por exemplo, podemos citar o enfraquecimento do colágeno dos vasos sanguíneos e dos ligamentos dentários, causando hemorragias frequentes — sintoma característico do escorbuto, doença causada pela carência de vitamina C, co-fator indispensável para síntese de colágeno.

Portanto, a matriz extracelular não só possibilita a manutenção de um meio constante para o metabolismo, para as trocas e interações entre as células que compõem um tecido, mas também a diferenciação celular e a manutenção do organismo, sendo esta assumida por diferentes tipos celulares.

Resumo

A matriz extracelular (MEC) é uma rede constituída de macromoléculas que cria uma estabilização da estrutura dos tecidos e também modula o comportamento das células. Através de moléculas protéicas integrais da membrana plasmática, estabelece-se uma continuidade entre o interior das células e a matriz extracelular. Um componente da matriz é a lâmina basal, que se estabelece entre os vários tecidos como o epitelial, capilares sanguíneos e o tecido muscular. Essa matriz extracelular é de fundamental importância para as funções desses tecidos.

CAPÍTULO 7



Núcleo

Neste capítulo, estudaremos as estruturas que constituem o núcleo celular, além de identificar e caracterizar as fases do ciclo celular. Vamos explicar os processos de divisão celular - mitose e meiose - e compreender o seu funcionamento no controle das atividades celulares.

7.1 Introdução

A presença de um ou mais núcleos nas células é a principal característica que vai distinguir as células eucarióticas das procarióticas. O núcleo, portanto, se acha presente em todas as células eucarióticas, exceto naquelas que o perderam em alguma etapa de seu ciclo de vida, como, por exemplo, os eritrócitos dos mamíferos. A maior parte das informações genéticas de uma célula está contida no DNA do núcleo celular, e apenas uma pequena porção de DNA se encontra fora do núcleo, nas mitocôndrias e nos cloroplastos. Nas células procarióticas, o DNA se distribui em uma região bem definida, denominada de **nucleóide**. Por abrigar o genoma da célula, o núcleo serve como depósito da informação genética e como centro de controle celular. A **replicação** do DNA, a **transcrição** e o **processamento** do RNA ocorrem dentro do núcleo, mas a **tradução**, que é o estágio final da expressão genética (síntese das proteínas), ocorre no citoplasma (Figura 7.1).

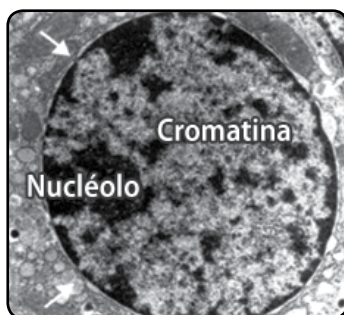
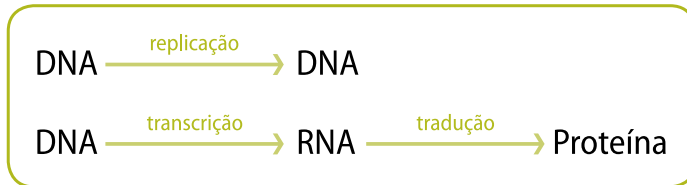


Figura 7.1 - O envelope nuclear. Uma micrografia eletrônica de um núcleo. As membranas nucleares interna e externa são unidas por complexos de poros nucleares (setas). (COOPER, p. 340).

O ciclo de vida da célula é dividido em duas fases principais: **interfase** e **mitose**. A interfase é o período entre duas divisões mitóticas e na mitose ocorre a divisão da célula em duas. De acordo com a fase em que a célula se encontra, distingue-se o **núcleo interfásico** e o **núcleo mitótico**. Abordaremos aqui os aspectos funcionais e estruturais do núcleo em interfase e, posteriormente, o núcleo em divisão.

O DNA, durante a interfase, pode atuar de duas maneiras: auto-duplicando-se, através do processo de replicação, ou transcrevendo sua informação em moléculas de RNA, segundo o esquema:



Geralmente, o núcleo é único e central, mas podemos encontrar, em células que armazenam material a ser posteriormente secretado, como as células caliciformes do intestino, um núcleo basal. Por outro lado, as células eucarióticas vegetais apresentam um núcleo deslocado para a periferia, devido ao seu grande vacúolo citoplasmático. Também existem células que apresentam mais de um núcleo, como as células hepáticas, ou um dos raros exemplos de célula com várias dezenas de núcleos, como as células da fibra muscular estriada. Em geral, a forma apresentada pelo núcleo acompanha o formato da célula, como nas células prismáticas, que têm núcleo alongado, ou nas células poligonais ou esféricas, cujo núcleo é esférico.

O tamanho do núcleo também pode variar, dependendo do seu metabolismo. Células com alto metabolismo apresentam núcleos bem desenvolvidos devido, principalmente, à grande quantidade de proteínas relacionadas com a transcrição do DNA. A quantidade de DNA nas células também vai influenciar no tamanho, como as células encontradas em alguns anfíbios e urodelos.

Podemos distinguir, no núcleo interfásico, os seguintes componentes: **envelope nuclear**, **cromatina**, **nucléolo** e **nucleoplasma**.

7.2 Envelope nuclear

Por separar o núcleo do citoplasma, o **envelope nuclear** permite que a expressão gênica seja regulada por mecanismos exclusivos das células eucarióticas. Assim, a presença de um núcleo permite que a **expressão gênica** seja regulada por mecanismos posteriores à transcrição. Da mesma forma, a presença de um envelope nuclear limita o livre acesso de proteínas ao material genético, possibilitando o controle da expressão gênica em nível de transcrição. A expressão

de alguns genes eucarióticos é controlada pelo transporte regulado de alguns fatores de transcrição do citoplasma para o interior do núcleo, fazendo com que a separação entre o genoma e o citoplasma, onde acontece a tradução do mRNA, tenha um papel fundamental na expressão gênica em eucariotos. Esse **envoltório** só é visível ao microscópio eletrônico, devido ao fato de a sua espessura estar abaixo do limite de resolução do microscópio de luz (Figura 7.2).

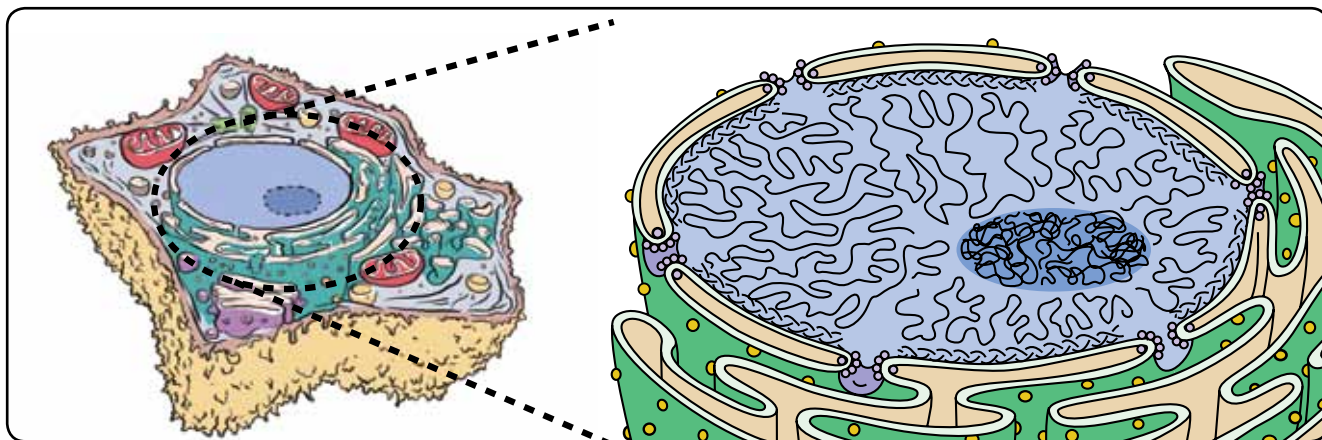


Figura 7.2 - Esquema do envelope nuclear. A membrana nuclear interna está demarcada pela lâmina nuclear, que serve como um sítio de ligação para a cromatina. (Ilustração baseada em COOPER, p. 340).

O **envelope nuclear** é composto por duas membranas, a interna e a externa. A membrana externa é contínua com o retículo endoplasmático. Ela funciona similarmente às membranas do retículo endoplasmático, muitas vezes possuindo ribossomos ligados à sua superfície citoplasmática. A membrana interna apresenta, na sua face nucleocitoplasmática, um espessamento denominado de lâmina nuclear, ou associado à cromatina ou com os cromossomos.

As membranas nucleares agem como uma barreira que previne a livre passagem de moléculas entre o núcleo e o citoplasma, mantendo o núcleo como um compartimento distinto do citoplasma. Assim como as outras biomembranas, as membranas nucleares são bicamadas fosfolipídicas, permeáveis somente a pequenas moléculas não-polares. Moléculas protéicas maiores ou polares não as atravessam.

As membranas nucleares, interna e externa, se unem para formar o **complexo de poro**, que são os únicos canais que existem nesse envoltório. Esses canais permitem trocas reguladas entre o

núcleo e o citoplasma, através das quais pequenas moléculas polares e/ou macromoléculas são capazes de atravessar esse poro (Figura 7.3).

Dependendo do tamanho, as moléculas podem deslocar-se através do complexo de poros nucleares por dois mecanismos diferentes. Moléculas pequenas e algumas proteínas com massa molecular menos do que 50 kd atravessam livremente através do envoltório, em ambas as direções, do núcleo para o citoplasma e do citoplasma para o núcleo. Essas moléculas se difundem passivamente através de canais aquosos abertos.

A maioria das proteínas e dos RNAs, entretanto, é incapaz de passar através desses poros abertos. Em vez disso, essas macromoléculas passam pelos poros por um processo ativo no qual proteínas apropriadas e RNAs são reconhecidos e transportados seletivamente, mas somente em uma direção (do núcleo para o citoplasma ou do citoplasma para o núcleo). É através desses canais regulados que as **proteínas nucleares** são importadas do citoplasma para o núcleo, enquanto que os RNAs são exportados para o citoplasma. À microscopia eletrônica, esses complexos de poros nucleares revelaram serem compostos de uma estrutura em forma de anel com simetria octogonal, organizada ao redor de um canal central grande. Um dos anéis está ligado à superfície nuclear, e o outro à superfície citoplasmática do envoltório. Cada anel é ancorado na bicamada lipídica, nos pontos em que as membranas interna e externa estão fundidas. A eles se conectam oito **fibrilas radiais** que se dirigem ao canal central. Estruturas filamentosas se estendem dos anéis citoplasmáticos e nucleares, constituindo uma estrutura semelhante a um cesto, na face nuclear. Há filamentos que se projetam a partir das diferentes subunidades em direção ao citoplasma, mas eles são individualizados e não arranjados em cesto, como acontece na face nuclear. O canal central tem aproximadamente 40nm de diâmetro e é extenso o suficiente para acomodar as maiores partículas capazes de cruzar o envoltório nuclear. Ele contém uma estrutura chamada de transportador central, através do qual se acredita que ocorre o transporte ativo (Figura 7.4).

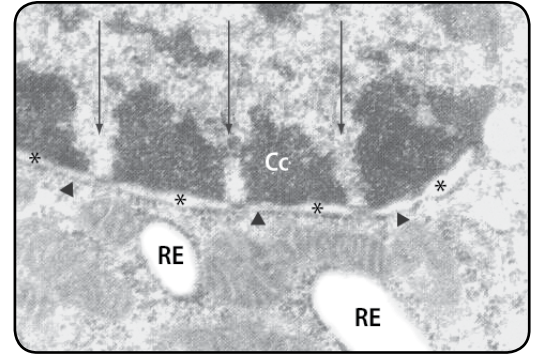


Figura 7.3 - Aspectos ultra-estruturais da periferia nuclear de uma célula epitelial da glândula mamária de ratos. Nesta figura é observado o envoltório nuclear (▶) associado à cromatina condensada (Cc). O espaço perinuclear (EP) é evidente (*), sendo interrompido nos complexos de poro (→). Estendendo-se dos complexos de poros na direção nuclear, existem canais preenchidos por cromatina frouxa. (CARVALHO & RECCO-PIMENTEL, p. 78).

Como as histonas.

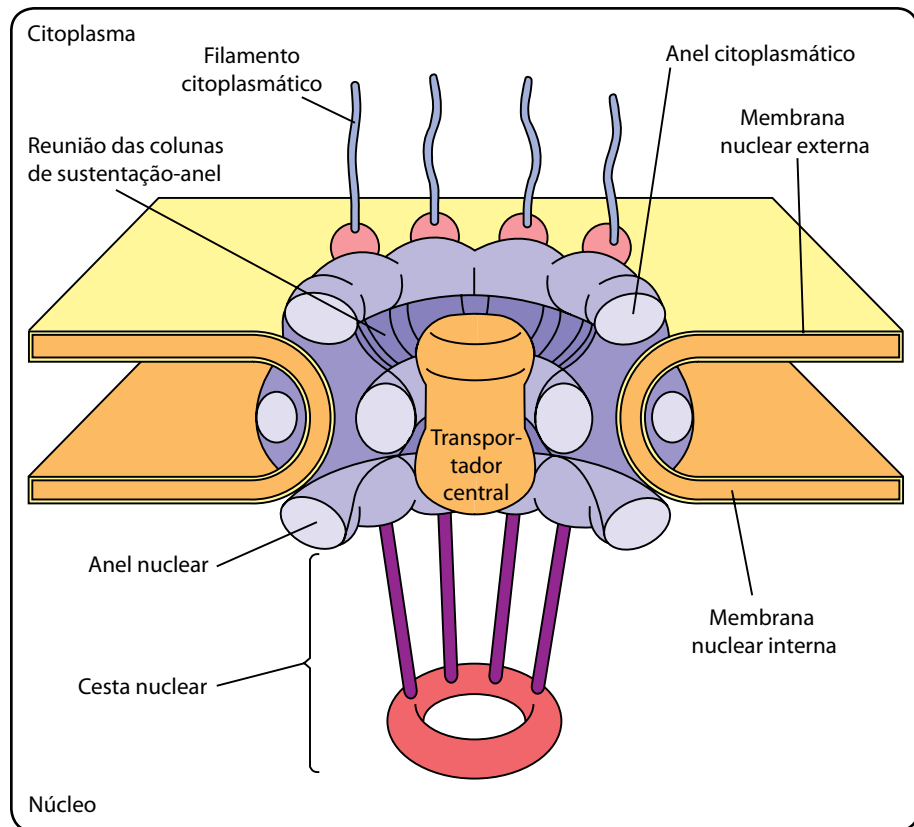


Figura 7.4 - Modelo complexo de poro nuclear. O complexo consiste na união de oito colunas de sustentação ligadas a anéis nos lados citoplasmático e nuclear do envelope nuclear. A reunião das colunas de sustentação-anel rodeia um canal central contendo o transportador central. Filamentos citoplasmáticos estendem-se a partir do anel citoplasmático, e os filamentos formando a cesta nuclear estendem-se a partir do anel nuclear. (Ilustração baseada em COOPER, p. 344).

Esse tráfego seletivo de proteínas para o interior do núcleo e RNA para o citoplasma não apenas estabelece a composição interna do núcleo, mas também desempenha um papel crucial durante a expressão gênica dos eucariotos.

O número e a densidade de complexos de poro são bastante variáveis. Dependendo da função desempenhada por uma célula, podem existir vários ou nenhum complexo de poro. Em oócitos, existe uma quantidade muito grande de complexos de poro, enquanto que os espermatozóides maduros são desprovidos deles. O complexo de poro é uma estrutura extremamente grande, com um diâmetro em torno de 120nm e um diâmetro interno de 9nm.

7.3 Transporte seletivo de proteínas do núcleo para o citoplasma e deste para o núcleo

Normalmente, o núcleo importa do citoplasma proteínas de peso molecular elevado, como as **polimerases** do DNA e do RNA (de aproximadamente 100.000 e 200.000 dáltons, respectivamente). As proteínas do núcleo são sintetizadas no citoplasma com um **sinal de localização nuclear**, constituído de um pequeno segmento de 4-8 aminoácidos básicos, como lisina e arginina. Essas proteínas marcadas para serem destinadas ao núcleo atravessam o complexo de poro por um mecanismo dependente de energia, que é fornecida pelo ATP e GTP. Esse sinal nuclear específico é conhecido por apresentar uma proteína citoplasmática, a **importina**.

A importina se liga à proteína a ser transportada para o núcleo e estabelece sua ligação ao complexo de poro, promovendo seu transporte. Após este transporte, a importina se desliga da proteína e retorna ao citoplasma, podendo ser reutilizada. Esse sinal de localização nuclear não é removido depois que a proteína entra no núcleo. Isso vai ser importante para a sua reintrodução no núcleo no momento em que o envoltório nuclear se refaz, ao final da mitose.

Da mesma forma, por um processo ativo, os RNAs (mRNA, tRNA rRNA) são exportados do núcleo para o citoplasma como um complexo RNA-proteínas. Os sinais que dirigem a exportação nuclear podem estar presentes nos próprios RNAs ou nas proteínas. As moléculas de mRNA estão complexadas com cerca de 20 proteínas, formando as **ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas** ou **hnRNPs**. Pelo menos uma dessas proteínas pode conter um sinal de exportação nuclear e atuar como exportadora do mRNA para o citoplasma.

Da mesma forma, os rRNAs são exportados do núcleo na forma de partículas complexadas a proteínas, ou seja, as subunidades ribossômicas. Com relação ao tRNA, não se conhecem os mecanismos moleculares envolvidos no processo de exportação para o citoplasma.

7.4 Lâmina nuclear

Subjacente à membrana interna, está a lâmina nuclear, que é uma rede de fibras que irá fornecer suporte estrutural para o núcleo (Figuras 7.4 e 7.5).

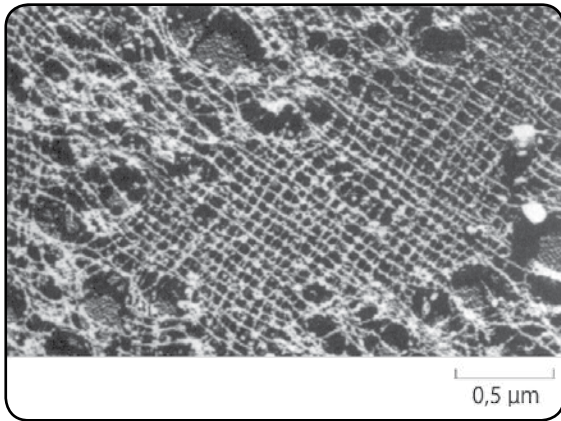


Figura 7.5 - Micrografia eletrônica da lâmina nuclear. A lâmina nuclear é uma rede de filamentos subyacentes à membrana nuclear interna (COOPER, p. 341).

A lâmina nuclear se interrompe nos poros e é formada por uma ou mais proteínas relacionadas, denominadas de lâminas. Todas as lâminas são proteínas fibrosas de 60 a 80 kd (kilo-dáltons) que pertencem ao grupo das proteínas dos filamentos intermediários do citoesqueleto. Com a dissolução do envoltório nuclear em pequenas vesículas, as lâminas também se dissociam, mas a lâmina **B** permanece associada a essas vesículas, enquanto que as lâminas **A** e **C** dissociam-se do envoltório nuclear e são liberadas como dímeros livres no citoplasma. Isso acontece devido ao fato de que a lâmina **B** é permanentemente modificada pela adição de **lipídeos**, enquanto que nas lâminas **A**

Grupo prenil.

e **C** esses grupamentos prenil são removidos pela proteólise após sua incorporação na lâmina. Além disso, a lâmina **B** possui uma porção lipídica que se insere na dupla camada da membrana. Durante a divisão celular, a **fosforilação** temporária das lâminas causa a **desorganização** da lâmina nuclear. Ao final da mitose, as lâminas são desfosforiladas e se associam novamente para refazer a lâmina nuclear (Figura 7.6). Proteínas intrínsecas da membrana nuclear interna auxiliam na reorganização dos filamentos das lâminas em uma rede fibrosa. Além de manter a forma e dar suporte estrutural ao envoltório nuclear, a lâmina nuclear é também responsável pela ligação das **fibras cromatínicas** ao envoltório. A cromatina dentro do núcleo é organizada em grandes alças de DNA, algumas das quais parecem ser ligadas ao envoltório nuclear auxiliadas pelas lâminas.

A maioria das células dos mamíferos, por exemplo, contém as lâminas **A**, **B** e **C**.

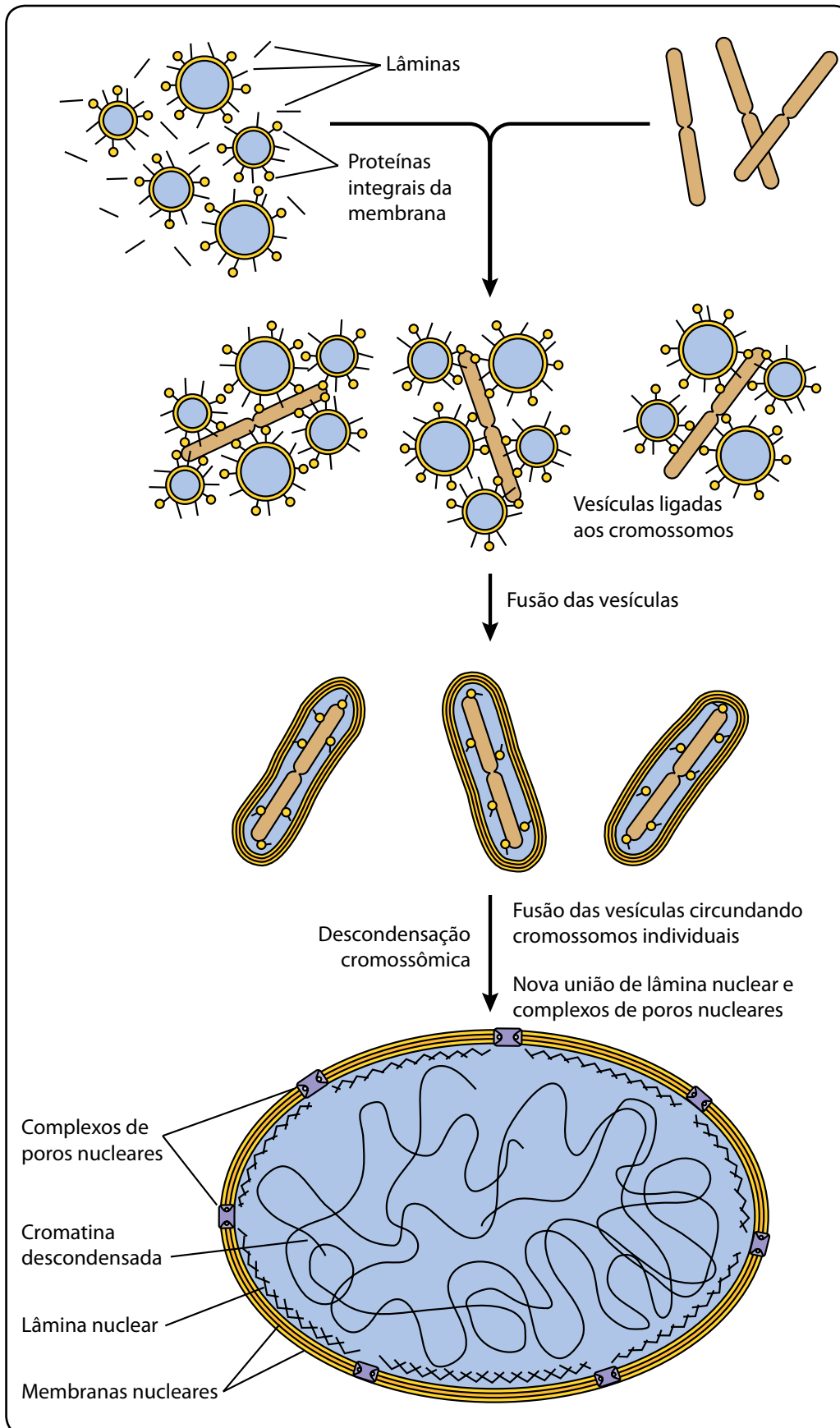


Figura 7.6 - Nova formação do envelope nuclear. O primeiro passo na nova união do envelope nuclear é a ligação das vesículas da membrana aos cromossomos, que pode ser medida pelas proteínas integrais de membrana e pelas lâminas tipo B. Então, essas vesículas se fundem, a lâmina nuclear une-se novamente e os cromossomos descondensam-se. (Ilustração baseada em COOPER, p. 365).

7.5 Cromatina

Não somente o genoma da maioria das células eucarióticas é muito mais complexo que o das procarióticas, mas também o DNA das células eucarióticas é organizado de forma diferente do DNA das células procarióticas. O genoma das células procarióticas está contido em um único cromossomo, que é uma molécula circular de DNA, denominada de nucleóide. Em contraste, o genoma das células eucarióticas é composto por múltiplos cromossomos, cada um deles sendo composto por uma molécula linear de DNA.

Muito embora o número de cromossomos seja extremamente variável entre as diferentes espécies, a estrutura básica dos cromossomos é a mesma em todos os eucariotos. Nessas células, o DNA está complexado a proteínas histônicas e é denominado de **cromatina**. Essa complexação da molécula de DNA às proteínas é extremamente importante, porque essas proteínas irão empacotar o DNA de maneira ordenada dentro da célula. Essa tarefa é essencial para a célula, visto que o DNA de uma célula humana tem quase 2 m de comprimento e deverá se encaixar a um núcleo de 5 a 100 mm de diâmetro. As principais proteínas da cromatina são denominadas de histonas, que são proteínas pequenas com grande proporção de aminoácidos básicos, como a lisina e a arginina. Existem cinco tipos principais de histonas, que são denominadas **H1, H2A, H2B, H3 e H4**, as quais são muito similares entre as diferentes espécies de eucariotos

A seqüência de aminoácidos dessas **histonas** se conservou de maneira excepcional durante a evolução. As histonas H3 e H4 apresentam seqüências idênticas em organismos tão distintos como a ervilha e o boi, sugerindo que elas desempenhem funções idênticas em todos os eucariotos. Recentemente, as histonas foram encontradas em arqueobactérias, um reino filogenético distinto de plantas e animais. Esta conservação evolucionária extrema reflete a função vital das histonas na formação da cromatina.

Descrito por Kornberg,
em 1974.

..... A unidade estrutural básica da cromatina é chamada de **nucleossomo**. Quando o núcleo interfásico é rompido e seu conteúdo

examinado ao microscópio eletrônico, a maior parte da cromatina está na forma de uma fibra de aproximadamente 30nm de diâmetro. Se essa cromatina for submetida a tratamentos que a desdobrem parcialmente, ela poderá ser vista ao microscópio eletrônico como uma série de “contas num cordão” (Figura 7.7).

O cordão é o DNA, e cada conta é uma “partícula central do nucleossomo”, que consiste de DNA enrolado quase duas vezes em volta de um núcleo de proteínas. A estrutura dos **nucleossomos** foi determinada após seu isolamento da cromatina desenrolada pela digestão com **nucleases** específicas que cortam o DNA entre os nucleotídeos. Depois da digestão por um curto período, o DNA exposto entre as partículas que formam a porção central do nucleossomo – o DNA espaçador – é degradado.

A porção central de uma partícula individual de nucleossomo consiste de 146 pares de base, enroladas 1,65 vezes em torno do núcleo da histona, que é formado de um complexo de oito proteínas histônicas (octâmero) e de duas moléculas de cada uma das histonas – H2A, H2B, H3 e H4 (Figura 7.8).

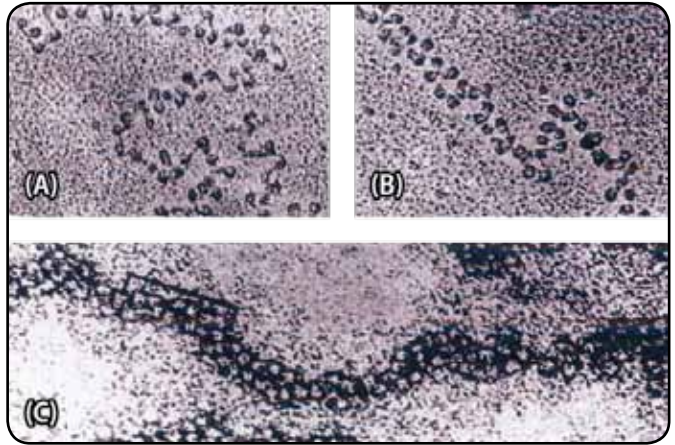


Figura 7.7 - Filamentos de cromatina interfásica. A e B – Filamento de 10 nm (sem histonas H1). C – Filamento de 25 nm (com histonas H1).

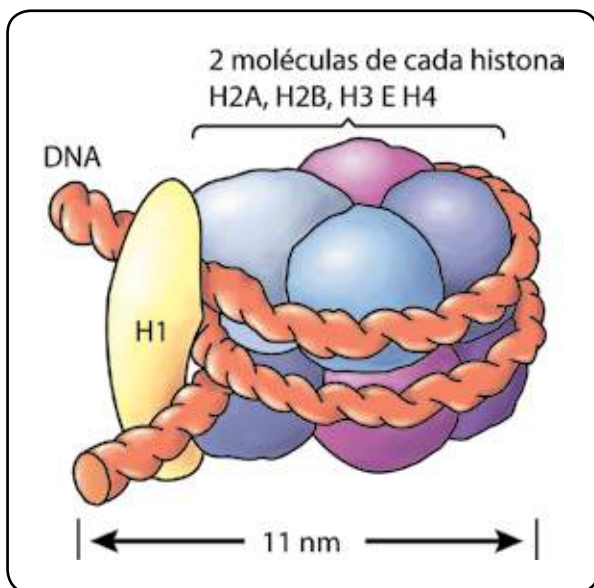


Figura 7.8 - Estrutura de um core-nucleossômico. (A) A partícula central do nucleossomo é composta de 146 pares de bases de DNA enrolados 1,65 vezes em torno do octâmero de histonas composto por duas moléculas de cada histona (H2A), H2B, H3 e H4). Um nucleossomo contém: duas voltas de DNA ao redor do octâmero de histonas mais o DNA espaçador (cerca de 200 pares de bases), prendidos neste local por uma molécula de H1. (Ilustração baseada em COOPER, p. 172).

A quinta histona, H1, é ligada ao DNA espaçador (cerca de 50 nucleotídeos) à medida que é formada cada partícula central do nucleossomo, perfazendo um total de, aproximadamente, 200 pares de nucleotídeos (Figura 7.9).

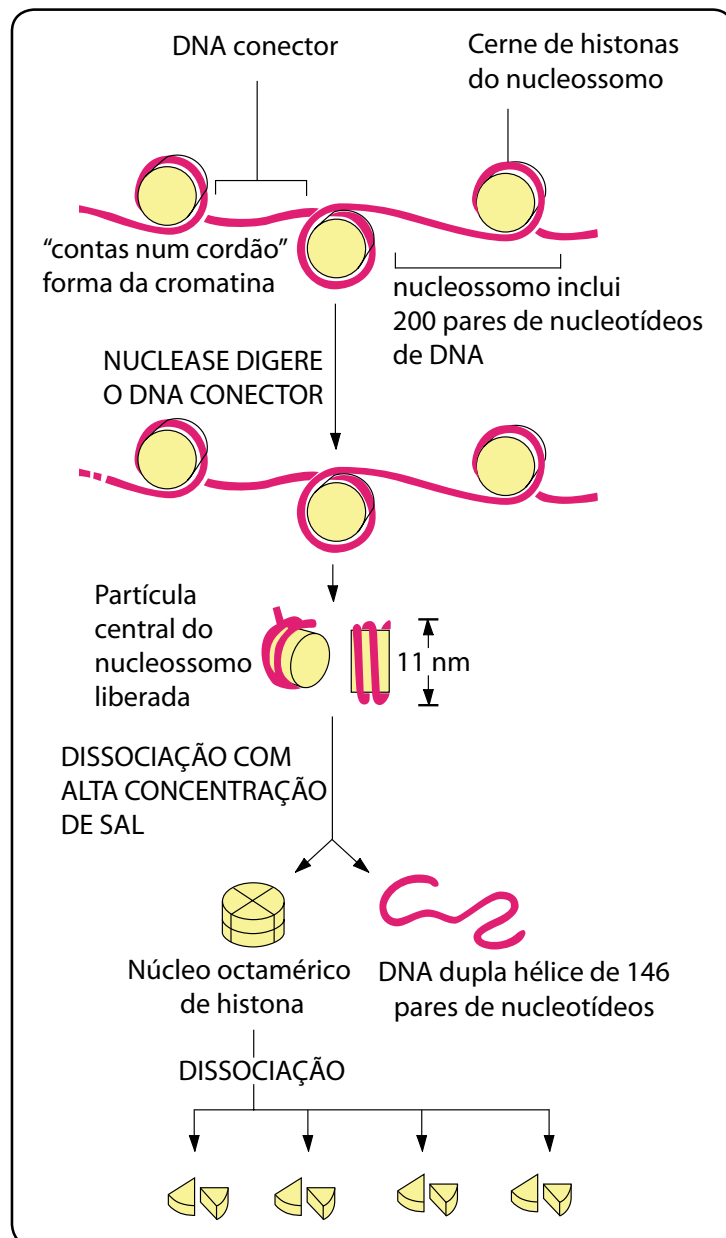


Figura 7.9 - A natureza do nucleossomo. Um nucleossomo contém um cerne de proteínas, constituído de oito moléculas de histonas. Como indicado, a partícula central do nucleossomo é liberada da cromatina pela digestão do DNA conector com uma nuclease, uma enzima que degrada o DNA. (A nuclease pode degradar o DNA exposto, mas não pode atacar o DNA enrolado em volta do nucleossomo). Depois da dissociação dos nucleossomos isolados no cerne de proteínas e DNA, o tamanho do DNA que estava enrolado em volta do cerne pode ser determinado. Seu comprimento de 146 pares de nucleotídeos é suficiente para quase se enrolar duas vezes ao redor do cerne de histonas. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 256).

Na célula viva, a cromatina assume raras vezes a forma estendida de contas, como a vista na Figura 7.10. Em vez disso, os nucleossomos são colocados uns sobre os outros para gerar a estrutura de 30nm (ou **solenóide**). Esta compactação depende da histona H1 (Figura 7.11).

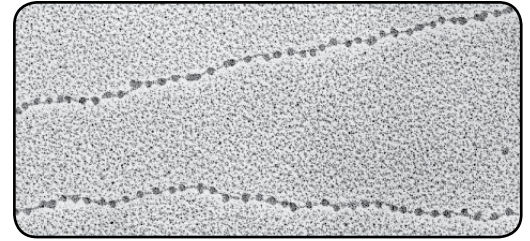


Figura 7.10 - Esta micrografia eletrônica mostra um pedaço da cromatina que foi experimentalmente descompactada e descondensada, depois do isolamento, para mostrar os nucleossomos (ALBERTS et al, p. 255).

O grau de condensação da cromatina varia durante o ciclo de vida de uma célula. A fibra de 30nm se compacta ainda mais até formar os cromossomos mitóticos. Acredita-se que a fibra de 30nm é adicionalmente organizada em alças que emanam de um eixo central, que, por sua vez, sofre mais um nível de compactação para formar os cromossomos mitóticos (Figura 7.12).

Durante a interfase, a maioria da cromatina, que é denominada **eucromatina**, é relativamente descondensada e distribuída por todo o núcleo, cujos genes são transcritos. É nessa forma que a cromatina é ativa no DNA, pois apenas assim é que ela pode ser transcrita nos diferentes tipos de RNA. Sua estrutura está, portanto, intimamente ligada ao controle da expressão gênica. Em contraste a esta cromatina ativa, temos a **heterocromatina**, que está numa forma altamente condensada e é semelhante à cromatina das células que vão entrar em mitose.

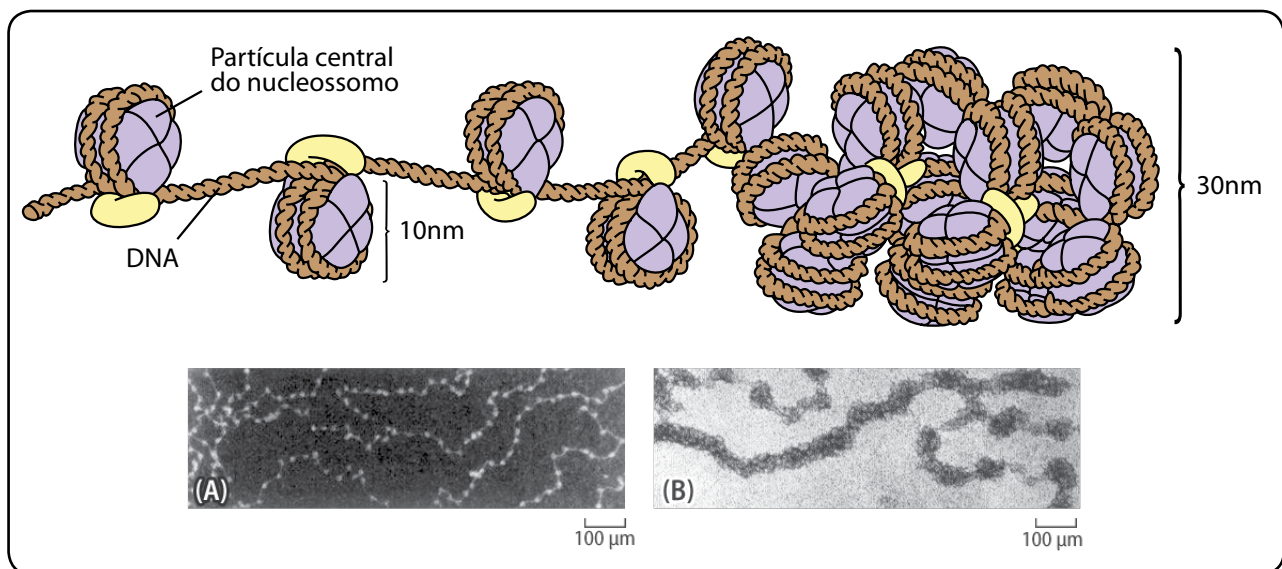


Figura 7.11 - Fibras de cromatina. O empacotamento do DNA em nucleossomos produz uma fibra de cromatina de aproximadamente 10 nm de diâmetro. A cromatina é condensada novamente, por enrolamento, em uma fibra de 30nm, contendo cerca de seis nucleossomos por volta. (Ilustração baseada em COOPER, p.172).

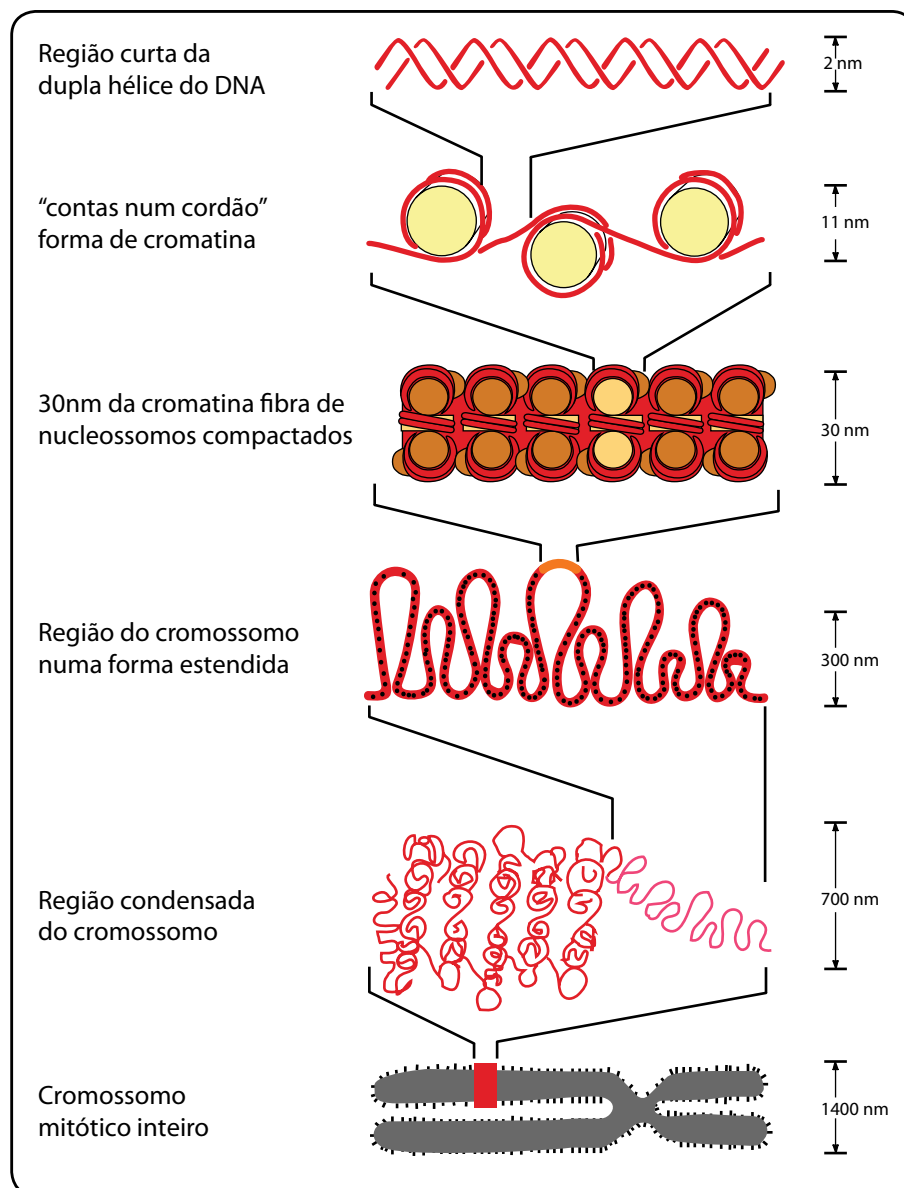


Figura 7.12 - Níveis de compactação da cromatina. Este desenho esquemático mostra alguns dos níveis de compactação da cromatina que se acredita deem origem ao cromossomo mitótico altamente condensado. O enrolamento do DNA nos nucleossomos é o nível mais bem entendido da compactação. As estruturas correspondentes aos níveis adicionais de compactação são mais especulativos. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 257).

Que é formada por seqüências gênicas altamente repetitivas.

Essas seqüências se localizam em regiões específicas dos cromossomos, tais como nos centrômeros, telômeros e ao redor das constrições secundárias.

As células contêm dois tipos de heterocromatina (Figura 7.13): a **heterocromatina construtiva**, que nunca é transcrita e a **heterocromatina facultativa**, que em um mesmo organismo se apresenta condensada em algumas células e descondensada em outras e pode conter seqüências gênicas em cópias únicas ou repetitivas, passíveis de transcrição, mas que são inativadas.

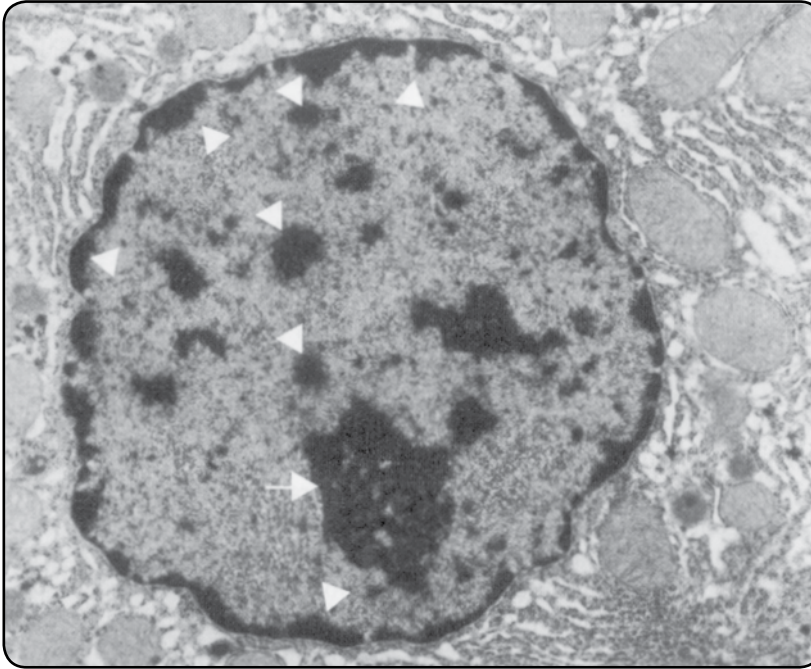


Figura 7.13 - Cromatina na interfase. Micrografia eletrônica de um núcleo interfásico. A eucromatina de um núcleo interfásico. A eucromatina está indicada pelas pontas de setas, e o nucléolo por uma seta completa. (COOPER, p. 173).

O exemplo clássico de heterocromatina facultativa é o **cromossomo X** das fêmeas dos mamíferos. Um dos dois cromossomos X na fêmea é inativo ainda durante a vida intra-uterina. Essa inativação ocorre ao acaso; em algumas células o cromossomo X condensado é de origem materna e, em outras, de origem paterna. Como consequência, o corpo da fêmea é um mosaico contendo, possivelmente em todos os órgãos, células com cromossomo X paterno ou materno inativos. O cromossomo X heterocromático é observado, no interior do núcleo ou associado ao envoltório nuclear, como uma partícula esférica que se cora fortemente, à qual se dá o nome de **cromatina sexual**. Esta cromatina se apresenta sob diferentes formas; por exemplo, nos leucócitos polimorfonucleares neutrófilos, ela aparece como uma protuberância do núcleo em forma de raquete, enquanto que em células do epitélio bucal, ela parece como uma pequena partícula ligada ao envoltório nuclear - corpúsculo de Barr (Figura 7.14). A presença ou não da cromatina sexual permite o diagnóstico citológico do sexo.

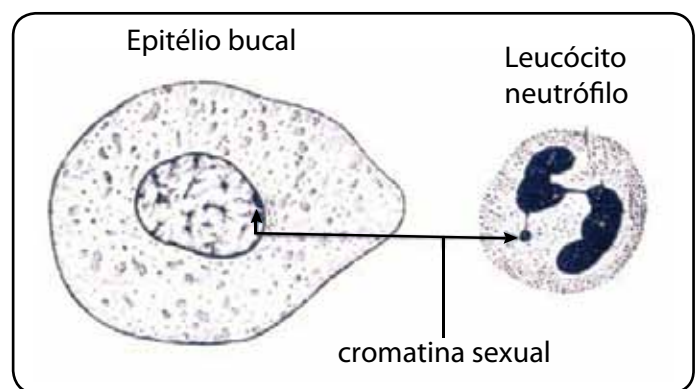


Figura 7.14 - Morfologia e posição da cromatina sexual em células do epitélio bucal e no leucócito neutrófilo humano. Na célula epitelial, a cromatina sexual aparece como um pequeno corpúsculo bastante compactado e fortemente corado, aderido ao envoltório nuclear, no neutrófilo, como uma raquete presa a um lobo do núcleo. (JUNQUEIRA E CARNEIRO, p. 154).

7.6 Cromossomo: o estado mais condensado da cromatina

Os cromossomos são resultantes da **condensação cromatínica**, que ocorre durante a divisão celular (**mitose** ou **meiose**). O grau de condensação atinge o máximo na metáfase, razão pela qual é nesta fase que se estudam os cromossomos. Nessa fase também o DNA, que está altamente condensado, não pode mais ser transcrito, de modo que toda síntese de RNA pára durante a mitose. Quando os cromossomos se condensam e a transcrição cessa, o núcleo desaparece.

A duplicação do DNA é condição determinante para que a célula entre em divisão. Em consequência disso, o **cromossomo metafásico** é composto por duas moléculas-filhas de DNA, cada qual presente em uma das duas **cromátides** que constituem o cromossomo.

Cada cromátide é resultante da compactação de 30nm.

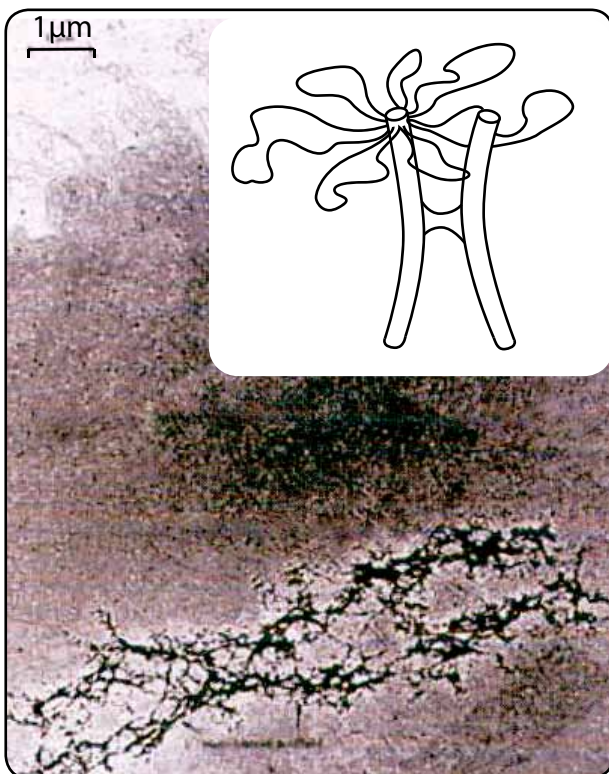


Figura 7.15 - Cromossomos metafásicos sem histonas ao ME de transmissão. Observe o esqueleto de proteínas não-histônicas e as alças de DNA (esquema). (DE ROBERTIS; HIB, p. 218)

A estrutura dos cromossomos metafásicos foi determinada experimentalmente. As histonas do DNA foram removidas, utilizando-se substâncias como a **heparina** ou o **sulfato de dextrana**, que compete com o DNA pela ligação com as histonas. A estrutura resultante manteve a morfologia original do cromossomo, um esqueleto protéico central (de proteínas não-histônicas), denominado de **esqueleto metafásico**. Circundando essa estrutura, encontrava-se um halo formado por muitas alças de DNA, não associado às histonas. Esse experimento sugere que o cromossomo metafásico seja formado por um esqueleto de proteínas não-histônicas, associado à fibra cromatínica (Figura 7.15).

As duas cromátides de um cromossomo são unidas através de uma região de estrangulamento, denominada de **constrição primária ou centrômero**. Nessa região, a cromatina está extremamente condensada, e as seqüências de DNA são altamente repetitivas. Em geral, existe

somente um centrômero por cromossomo, e sua posição permite a classificação morfológica desse cromossomo.

Quando o centrômero está na região central, dividindo o cromossomo exatamente ao meio, com os dois braços exatamente iguais, temos o cromossomo **metacêntrico**. Se a divisão gerar dois braços desiguais, temos o cromossomo **submetacêntrico**. Os cromossomos **acrocêntricos** apresentam um centrômero subterminal e, nos **telocêntricos**, o centrômero é terminal (Figura 7.16).

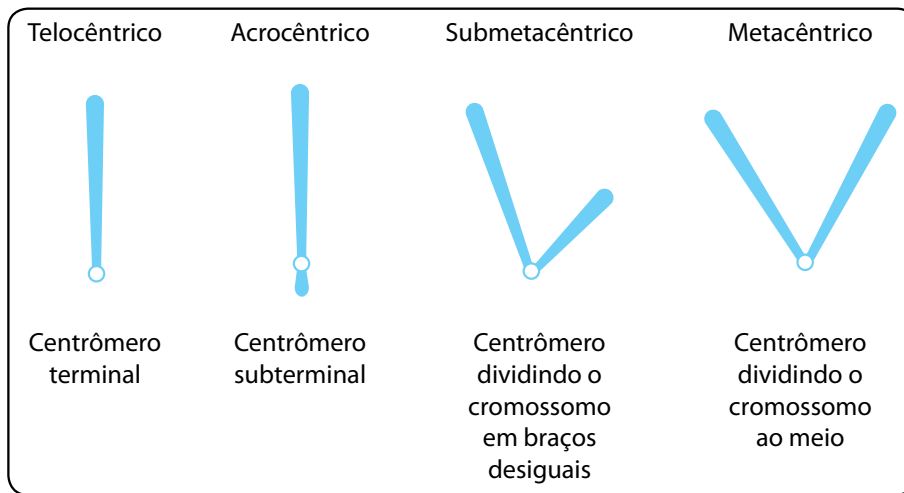


Figura 7.16 - Esquema dos quatro diferentes tipos de cromossomos, classificados de acordo com a posição do centrômero. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA E CARNEIRO, p. 159).

Lateralmente ao centrômero, cada cromátide apresenta uma estrutura protéica associada, denominada de **cinetócoro**. Os cinetócoros dirigem a migração dos cromossomos durante a divisão celular. Estruturalmente, o cinetócoro é formado por três discos empilhados, e o mais interno contacta o centrômero, enquanto que no mais externo ligam-se as fibras de microtúbulos, que compõem as fibras do fuso de divisão.

Além da constrição primária, certos cromossomos apresentam estreitamentos que aparecem sempre no mesmo lugar, denominados de **constrições secundárias**, muito utilizadas na caracterização dos cromossomos, visto que é nessa região em que muitas vezes estão presentes as **RONs (Região Organizadora do Nucléolo)**.

Nas extremidades dos cromossomos metafásicos, são encontradas seqüências especiais de DNA, denominadas de **telômeros**.

Os telômeros impedem a adesão dos cromossomos entre si, mantendo sua estabilidade. Estas seqüências foram extremamente conservadas durante a evolução, sendo semelhantes mesmo em organismos tão diversos como fungos, protozoários, vegetais e mamíferos. Elas consistem em curtas seqüências repetidas que se organizam *in tandem* (em grupo).

Em células humanas, essa seqüência é TTAGGG. As seqüências são replicadas por uma enzima, denominada **telomerase**, que é capaz de manter constante o tamanho e as propriedades dos telômeros. Em células cuja telomerase é alternada, os telômeros se modificam e encurtam, e esses sinais estão presentes em células transformadas ou em processo de envelhecimento.

Uma outra forma de caracterização dos cromossomos é feita por técnicas especiais, como o **bandamento**. Esse tratamento leva ao aparecimento de padrões definidos, as bandas, diferencialmente coradas ao longo do cromossomo. O bandamento permite evidenciar diferenças na distribuição dos componentes da cromatina ou na sua composição química, que ocorrem ao longo do cromossomo.

Existem diversas técnicas de bandamento, baseadas em diferentes princípios, mas a técnica utilizada sempre dará o mesmo padrão, número e posição de cada banda, que serão específicos e constantes para cada cromossomo. Essa especificidade permitiu identificar de maneira precisa cada cromossomo de cada espécie, melhorando sensivelmente a qualidade do cariótipo. Várias são as técnicas de bandamento, como a **banda C**, na qual o material tem seu DNA desnaturado com solução salina, renaturado e em seguida corado com Giemsa. Outro exemplo é a **banda G**, na qual o material é tratado com a enzima tripsina e em seguida corado com Giemsa. Na **banda Q**, se utiliza o corante fluorescente quinacrina. Já na banda **AgNOR**, o material é tratado com uma solução de nitrato de prata e gelatina e, posteriormente, levado à estufa.

7.7 Nucléolo

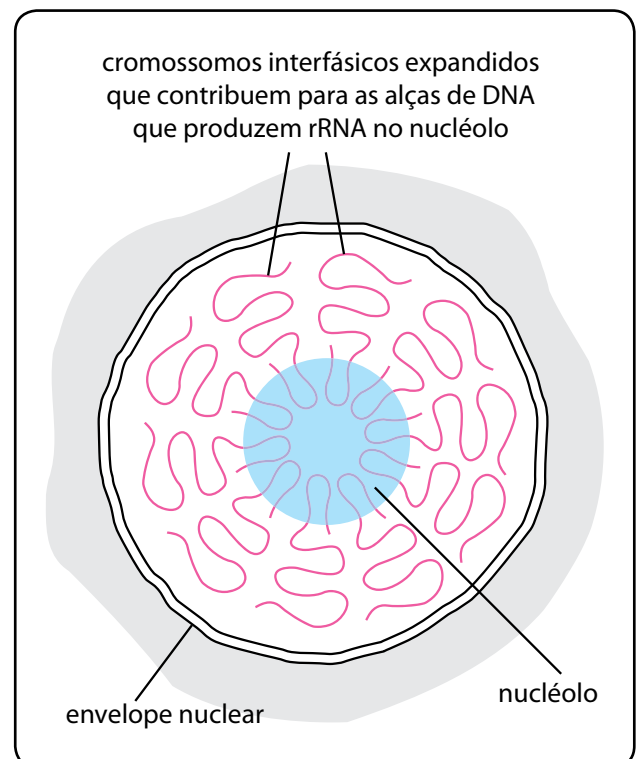
A subestrutura mais proeminente, evidenciada pelo microscópio de luz, dentro do núcleo interfásico, é o **nucléolo**, que não é circundado por uma membrana. Esta é uma região onde as partes dos diferentes cromossomos que contêm os genes para o RNA ribossômico se agrupam e onde ocorrem a transcrição e o processamento do rRNA (Figura 7.17). Além disso, as subunidades ribossomais são aqui construídas usando proteínas ribossomais importadas do citoplasma.

Os ribossomos das células eucarióticas contêm quatro tipos de RNA ribossomais, designados como **5S**, **5,8S**, **18S** e **28S**. Os RNAs ribossomais 5,8S, 18S e 28S são transcritos como uma única unidade dentro do nucléolo pela RNA polimerase, produzindo um RNA ribossomal precursor 45S, denominado pré-rRNA. O pré-rRNA 45S é processado para o rRNA 18S da subunidade ribossomal 40S (pequena) e para os RNAs 5,8S e 28S da subunidade ribossomal 60S (grande). A transcrição do rRNA 5S, que também é encontrada na subunidade ribossomal 60S, ocorre fora do nucléolo e é complexada com os rRNAs 28S e 5,8S e proteínas para formar a subunidade maior do ribossomo (Figura 7.18).

Para atender à necessidade da transcrição de grandes números de moléculas de rRNA, todas as células contêm múltiplas dos genes do rRNA. O genoma humano, por exemplo, contém aproximadamente 200 cópias do gene que codifica para os RNAs ribossomais 5,8S, 18S, e 28S e em torno de 2.000 cópias do gene que codifica para o rRNA 5S. Os genes para os RNAs ribossomais 5,8S, 18S e 28S são agrupados de forma enfileirada em cinco cromossomos humanos diferentes (cromossomos 13, 14, 15, 21 e 22); os genes para o rRNA 5S estão presentes em uma única série, no cromossomo 1.

As células especificam quais dos seus milhares de genes devem se expressar como proteínas. Este é um problema especialmente impor-

Figura 7.17 - O nucléolo. Esta visão altamente esquemática de um nucléolo numa célula humana mostra a contribuição de alças de cromatina contendo genes para rRNA de cromossomos interfásicos. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 261).



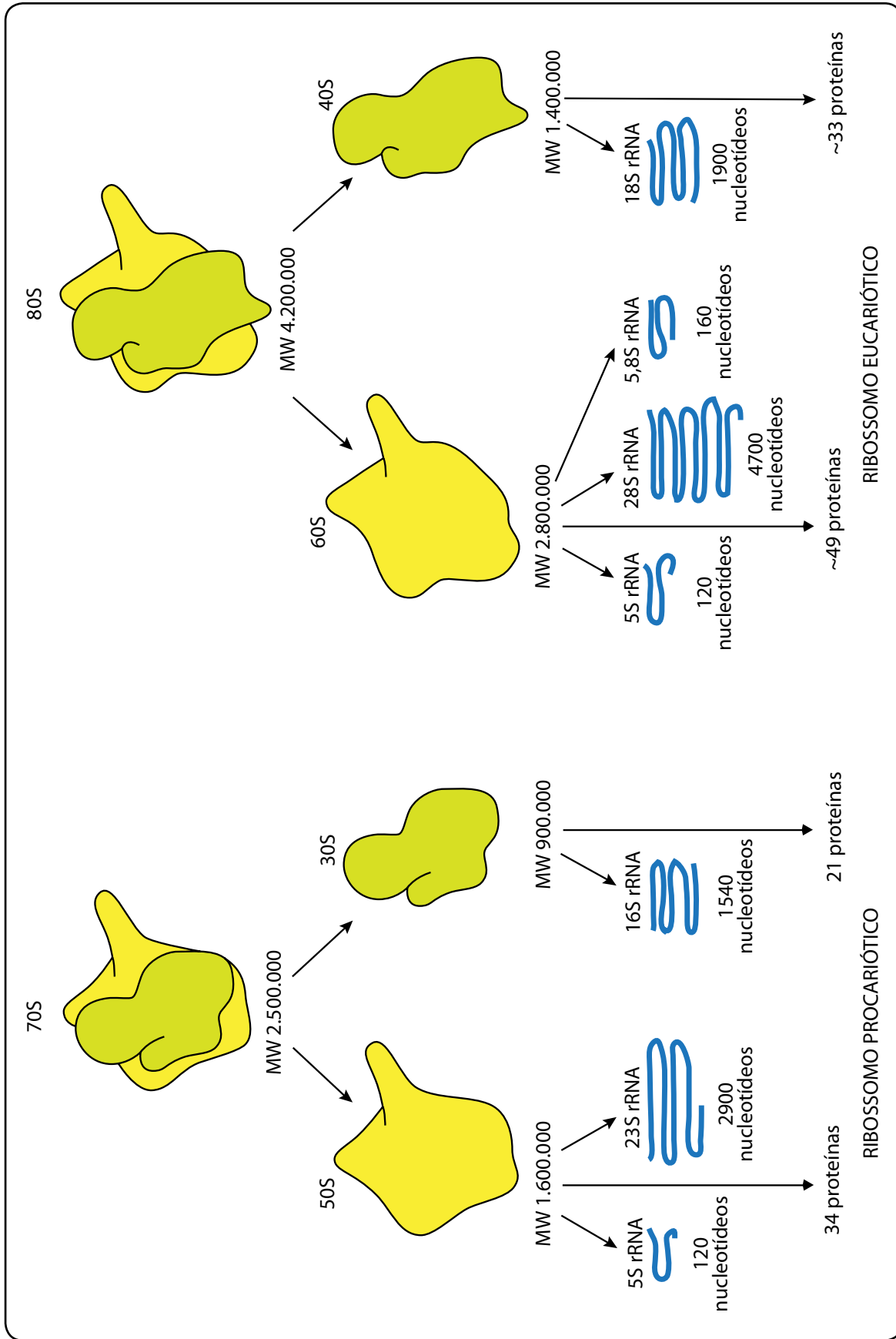


Figura 7.18 - Uma comparação das estruturas dos ribossomos procarióticos e eucarióticos. Componentes ribossomais são geralmente designados por seus "valores S", que indicam o coeficiente de sedimentação na ultracentrífuga. Mesmo com as diferenças em número e tamanho de seus rRNAs e proteínas, ambos os tipos de ribossomos têm praticamente a mesma estrutura e funcionam de forma muito semelhante. Apesar de os rRNAs 18S e 28S dos ribossomos eucarióticos conterem muitos nucleotídeos extras, ausentes nos equivalentes bacterianos, estes nucleotídeos estão presentes como inserções múltiplas, que se acredita projetarem-se como alças, deixando a estrutura básica de cada rRNA sem grandes mudanças. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 223).

tante para os organismos multicelulares, porque, à medida que o organismo se desenvolve, tipos celulares como músculos, nervos e células sangüíneas tornam-se diferentes uns dos outros, levando, eventualmente, a uma ampla variedade de tipos celulares observados nos organismos adultos. Esta diferenciação surge porque as células produzem e acumulam conjuntos diferentes de moléculas de RNA e proteínas, isto é, elas expressam diferentes genes.

A importância da produção do ribossomo é particularmente evidente em oócitos, nos quais os genes para o rRNA estão aumentados para sustentar a síntese do grande número de ribossomos necessários para o desenvolvimento embrionário inicial. Nos oócitos de *Xenopus*, os genes do rRNA estão aumentados em aproximadamente 2.000 vezes, resultando em cerca de 1 milhão de cópias por célula. Esses genes do rRNA amplificados estão distribuídos em milhares de nucléolos por oócitos (Figura 7.19).

Morfologicamente, os nucléolos são compostos de três regiões distinguíveis: o centro fibrilar (FC), o componente fibrilar denso (DFC) e o componente granular (G) (Figura 7.20). Acredita-se que estas diferentes regiões representem os sítios de estágios progressivos de transcrição, processamento e junção ribossomal do rRNA.

Os genes do rRNA estão localizados nos centros fibrilares, com a transcrição ocorrendo primariamente no limite dos centros fibrilares e do componente granular denso. O processamento do pré-rRNA é iniciado no componente granular denso e continua no componente granular. O rRNA será unido às proteínas ribossomais para formar as subunidades pré-ribossomais quase completas, prontas para serem exportadas para o citoplasma, onde se unirão para a realização de síntese protéica (Figura 7.21).

Os genes que codificam o rRNA estão localizados em porções da fibra cromatínica e, após sua compactação durante a mitose, irão constituir as constrições secundárias dos cromossomos. Essas regiões foram denominadas **Regiões Organizadoras do Nucléolo** ou **NOR**. O número das NORs e sua localização variam de espécie a espécie.

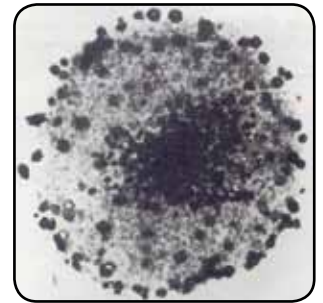


Figura 7.19 - Nucléolos em oócitos de anfíbio. Os genes aumentados do rRNA de oócitos do *Xenopus* são agrupados em múltiplos nucléolos (pontos escuros). (COOPER, p.357).

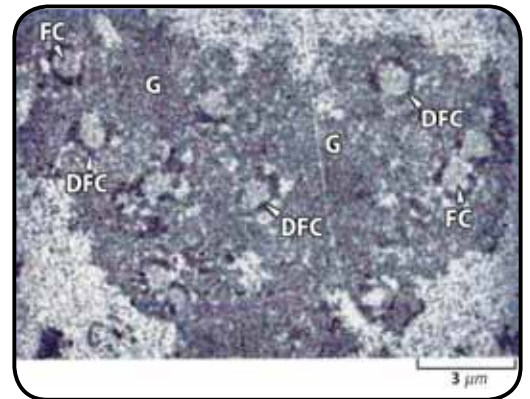


Figura 7.20 - Estrutura do nucléolo. Uma micrografia eletrônica ilustrando o centro fibrilar (FC), o componente granular denso (DFC) de um nucléolo. (COOPER, p.358).

Do inglês *Nucleolar Organizing Regions*.

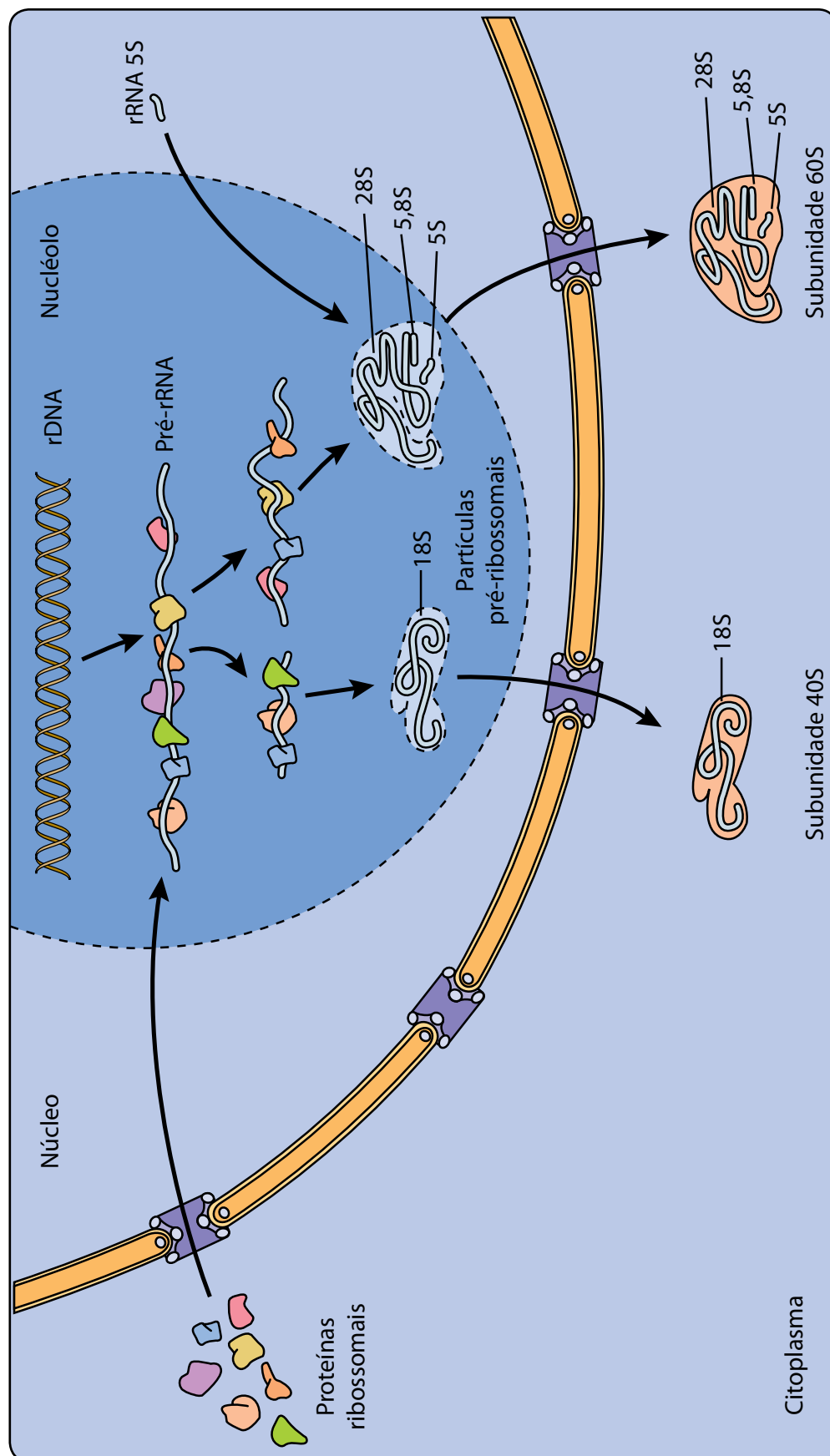


Figura 7.21 - União ribossomal. As proteínas ribossomais são importadas para o nucléolo a partir do citoplasma e começam a unir-se ao pré-rRNA antes de sua clivagem. Enquanto o pré-rRNA é processado, proteínas ribossomais adicionais e o rRNA 5S (que é sintetizado em qualquer lugar do núcleo) unem-se para formar partículas pré-ribossomais. Os passos finais da maturação seguem a exportação de partículas pré-ribossomais para o citoplasma, produzindo as subunidades ribossomais 40S e 60S. (Ilustração baseada em COOPER, p. 360).

Como dito anteriormente, na espécie humana, são encontrados cinco pares de cromossomos com a NOR, enquanto que em alguns vertebrados apenas um par é encontrado. O número de NOR de uma espécie não reflete o seu número de nucléolos, mas na maioria das células, os nucléolos, inicialmente separados, fundem-se para formar um único nucléolo. O tamanho de nucléolo depende da atividade metabólica da célula. Grandes nucléolos são encontrados em células com alta síntese protéica.

7.8 Transcrição e processamento do RNA

Cada região de organização nucleolar contém um grupo de genes de rRNA repetidos em série que são separados um do outro por DNA espaçador não-transcrito. Esses genes são ativamente transcritos pela RNA polimerase I, permitindo que sua transcrição seja prontamente visualizada no microscópio eletrônico. Nessas micrografias eletrônicas, cada um dos genes do rRNA dispostos em série é circundado por cadeias de RNA em formação e densamente empacotadas, formando uma estrutura parecida com uma árvore de natal (Figura 7.22).

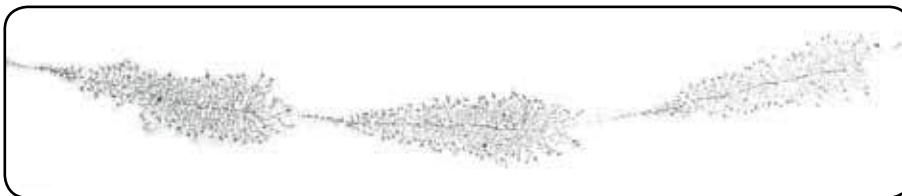


Figura 7.22 - Transcrição dos genes do rRNA. Uma micrografia eletrônica da cromatina nucleolar, mostrando três genes do rRNA separados por DNA espaçador não-transcrito. Cada gene do rRNA é circundado por uma série de cadeias de RNA em crescimento, resultando em um aspecto de árvore de Natal. (COOPER, p.358).

À medida que a RNA polimerase I transcreve o rDNA (DNA que codifica rRNA), proteínas são adicionadas às moléculas dos rRNAs nascentes, formando partículas pré-ribonucleoprotéicas (pré-rRNPs). A molécula de rRNA 45S presente em cada partícula de pré-rRNP é, então, clivada em seqüências específicas para formar as moléculas maduras de rRNA (5,8S – 160 nucleotídeos, 18S – 2000 nucleotídeos e 28S – 5000 nucleotídeos).

A molécula do rRNA 45S é, inicialmente, quebrada em duas (32S e 20S). A molécula de rRNA 20S é clivada, originando o rRNA 18S, enquanto que a clivagem do rRNA 32S origina as moléculas de rRNA 5.8S e 28S. Esse padrão de clivagem ocorre em células humanas, mas existem diferentes padrões de clivagem em outras espécies.

Além da clivagem, durante o processamento ocorrem também metilações das moléculas de pré-rRNA. Nas células humanas, boa parte das metilações acontece ainda durante a transcrição (mais de 100 grupos metil são adicionados às moléculas de rRNA), e poucos grupos metil são adicionados depois da transcrição. Todos esses radicais metil são preservados durante o processamento, de maneira que eles podem ser detectados nas moléculas maduras dos rRNAs. Essa metilação protege da clivagem determinadas regiões das moléculas transcritas.

Os genes que codificam o rRNA 5S (120 nucleotídeos) não estão presentes no rDNA, ou seja, esses genes estão localizados em outra região do DNA, que não a NOR. Assim, esse rRNA é transcrito fora do nucléolo e separadamente das outras moléculas de rRNA. Depois de transcrito, esse rRNA migra para o nucléolo, onde ele é complexado com os rRNAs 5,8S e 28S e proteínas para formar a subunidade maior do ribossomo.

7.9 Montagem das subunidades dos ribossomos

A montagem das subunidades ribossômicas envolve a complexação das moléculas dos rRNAs 5S, 5,8S, 18S e 28S e proteínas. Os genes que codificam as proteínas ribossômicas são transcritos fora do nucléolo. Essas proteínas são sintetizadas no citoplasma e importadas para o núcleo. Aproximadamente 49 tipos diferentes de proteínas serão adicionadas aos rRNAs 5S, 5,8S e 28S para formar a subunidade maior, e em torno de 33 tipos de proteínas serão adicionados ao rRNA 18S para formar a subunidade menor.

Mais da metade das proteínas ribossômicas associa-se ao pré-rRNA no momento da sua transcrição. As proteínas restantes,

bem como o rRNA 5S, serão incorporadas nas pré-subunidades ribossômicas à medida que ocorrem as clivagens. A subunidade ribossômica menor, que contém apenas a molécula do rRNA 18S, torna-se madura mais rapidamente que a subunidade maior, que contém os demais rRNAs. Os estágios finais da maturação do ribossomo envolvem a exportação das subunidades ribossômicas 40S e 60S para o citoplasma.

7.10 Nucleoplasma

O nucleoplasma é constituído, basicamente, por uma solução aquosa de RNAs, proteínas, nucleosídeos, nucleotídeos e alguns íons, onde estão mergulhados a cromatina e os nucléolos. A associação de técnicas de extração, fracionamento e microscopia eletrônica sugerem a existência de uma estrutura fibrilar, formando um endoesqueleto, denominada de **matriz nuclear**. Essa matriz nuclear seria equivalente ao citoesqueleto encontrado no citoplasma.

Juntamente com os componentes cromatínicos, a matriz nuclear define a forma e o tamanho nucleares, fornecendo um suporte estrutural para vários processos do metabolismo no núcleo interfásico, como transcrição e mecanismos de reparo, entre outros. Além disso, a matriz nuclear é a maior responsável pela alta compartimentalização funcional dentro do núcleo interfásico.

A maioria das proteínas presentes na matriz nuclear são as enzimas que estão envolvidas na duplicação e transcrição do DNA, como **DNA-polimerases**, **RNA-polimerases**, **helicases**, **topoisomerases**, entre outras.

Entre as proteínas da matriz nuclear, podemos citar as **matrinas** e as **metaloproteínas**. As matrinas são as principais e maiores proteínas da matriz nuclear, distinguindo-se das lâminas nucleares A, B e C e das proteínas nucleolares, como a hnRNP (ribonucleoproteína heterogênea).

Outra classe de proteínas que tem tomado grande importância na matriz nuclear são as glicoproteínas, que podem assumir um papel funcional no transporte e no reconhecimento de sinais na matriz nuclear.

As metaloproteínas, por sua vez, garantem a integridade estrutural da matriz nuclear, sem impedir as inter-relações dos componentes da matriz com a cromatina.

O RNA é o segundo componente em abundância na matriz nuclear. Essas moléculas são encontradas na forma de hnRNP ou também em pequenas ribonucleopartículas nucleares, as snRNPs. Esses RNAs e as ribonucleoproteínas desempenham um papel no processamento dos pré-mRNA e dos rRNA 45S dos nucléolos. Assim, postulou-se que estas ribonucleoproteínas, associadas à matriz nuclear, teriam importância no empacotamento pós-transcricional e transporte do mRNA para o citoplasma.

Há evidências de que algumas proteínas da matriz nuclear estejam envolvidas no transporte rápido dos mRNAs menores para o citoplasma, em que ocorre o processo de poliadenilação, essencial para o transporte de mRNAs maiores para o citoplasma.

7.11 O núcleo durante a mitose

É característica do núcleo se desmontar durante a mitose e se formar novamente ao final da divisão celular. No início da divisão celular ou mitose, os cromossomos condensam-se, o nucléolo desaparece e o envoltório nuclear fragmenta-se, o que resulta na liberação da maioria dos componentes no citoplasma. Ao final da mitose, todo processo é revertido, ou seja, os cromossomos descondensam-se, o nucléolo reaparece e o envoltório nuclear forma-se novamente ao redor do núcleo (ou dos cromossomos) das células-filhas.

Isso acontece com a maioria das células, mas essa não é uma característica universal da mitose e não ocorre em todas as células.

Como as leveduras.

Em alguns **eucariotos unicelulares**, acontece a mitose dita fechada, ou seja, não ocorre a dissolução do envoltório nuclear. Nesse tipo de mitose, os cromossomos-filhos migram para os pólos opostos do núcleo e então a célula se divide em duas.

7.12 Ciclo celular e mitose

Em 1958, o patologista alemão Rudolf Virchow propôs a chamada *doutrina celular*, que dizia que “de onde uma célula surge,

existia uma célula prévia, assim como os animais só surgem de animais e as plantas de plantas”. Células são geradas de células e a única maneira de obter mais células é pela divisão das células preexistentes.

Uma célula se reproduz através de uma seqüência ordenada de eventos, os quais duplicam os componentes celulares, e depois ocorre a divisão em duas células iguais, ou seja, uma célula parental dará origem a duas células-filhas ao final de cada divisão celular. Este ciclo de duplicação e divisão é denominado de **ciclo celular**.

Nos organismos eucarióticos, muitas divisões são necessárias para formar um indivíduo a partir de um ovo. A divisão em muitos organismos multicelulares ocorre por toda a vida do organismo, mesmo em indivíduos adultos, nos quais a reposição das células mortas é necessária.

No organismo humano, por exemplo, existem células que, uma vez formadas, não mais se reproduzem, como as células nervosas e as musculares, e outras que podem se dividir lentamente (células hepáticas que se dividem uma vez/ano) ou rapidamente, como é o caso das células epiteliais que revestem o intestino ou as precursoras das células sangüíneas da medula óssea, que se dividem mais de uma vez por dia.

Nessas células eucarióticas, o curso através do ciclo celular é controlado por uma série de proteínas **quinases**, que têm sido conservadas desde as leveduras até os mamíferos. Nos eucariotos superiores, essa maquinaria do ciclo celular é regulada pelos fatores de crescimento, que controlam a proliferação celular, permitindo que a divisão celular aconteça pela necessidade do organismo como um todo.

7.13 O ciclo celular dos eucariotos

O ciclo celular e a posterior divisão, na maioria das células, consistem em quatro passos distintos: o crescimento celular, a replicação do DNA, a distribuição dos cromossomos duplicados às células-filhas e a divisão celular.

Em bactérias, o crescimento celular e a replicação do DNA ocorrem durante a maior parte do ciclo celular, e os “cromossomos” duplicados são distribuídos às células-filhas associados à membrana plasmática.

O ciclo celular nos eucariotos é bastante complexo. Embora o crescimento celular seja normalmente um processo contínuo, o DNA é sintetizado somente numa fase do ciclo celular, e os cromossomos duplicados são distribuídos aos núcleos-filhos por uma série complexa de eventos que precedem a divisão celular.

7.14 Fases do ciclo celular

O ciclo é dividido em duas partes básicas: **interfase** e **mitose**.

O núcleo em interfase, como já vimos anteriormente, e a mitose (a divisão celular propriamente dita) são os estágios mais dramáticos do ciclo celular, correspondendo à separação dos cromossomos-filhos, e normalmente finalizando com a **citocinese**. No entanto, a mitose e a citocinese são eventos que acontecem muito rapidamente nas células e, desse modo, boa parte do tempo gasto pelo ciclo celular é na interfase, que é o período compreendido entre duas mitoses.

As células crescem constantemente através da interfase, com a maioria delas duplicando de tamanho entre uma mitose e outra, mas o DNA somente é sintetizado durante uma parte da interfase. Assim, o ritmo da síntese de DNA divide o ciclo celular em quatro fases distintas (Figura 7.23).

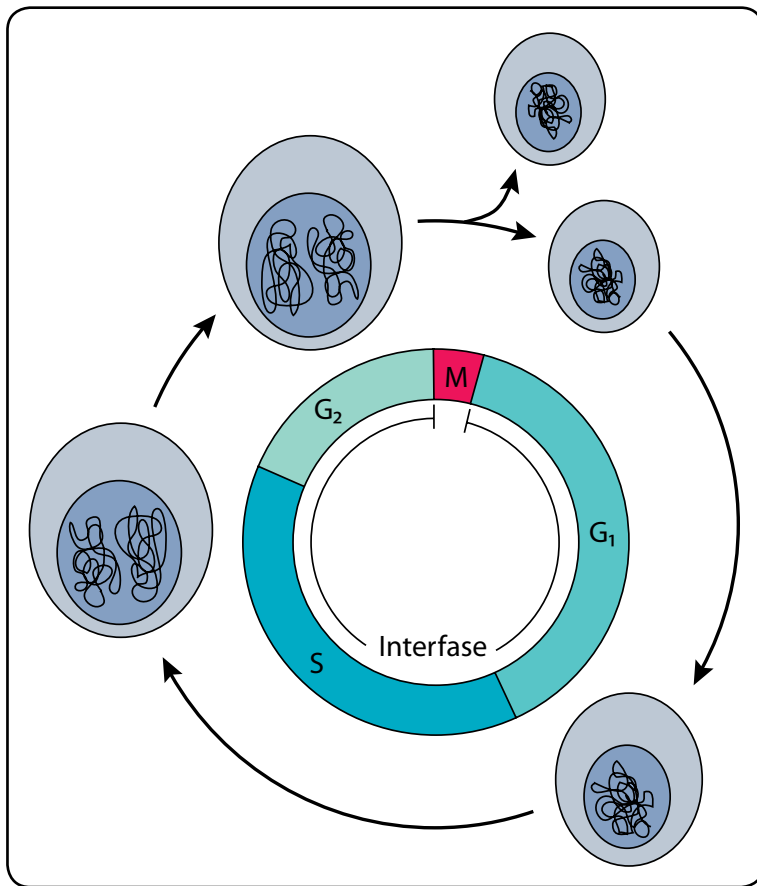


Figura 7.23 - Fases do ciclo celular. O ciclo de divisão celular da maioria das células eucariontes é dividido em quatro fases distintas: M, G₁, S e G₂. A fase M (mitose) é usualmente seguida pela citocinese. A fase S é o período durante o qual ocorre a replicação do DNA. As células crescem durante a interfase, que inclui G₁, S e G₂; a duração relativa das fases do ciclo celular mostrado aqui é típica da replicação rápida das células de mamíferos. (Ilustração baseada em COOPER, p. 596).

A fase **M** do ciclo, que corresponde à mitose, é geralmente seguida pela citocinese. Após essa fase, temos a fase **G₁**, que corresponde ao intervalo e ao início da replicação do DNA. Nesta fase, a célula está metabolicamente muito ativa, continua crescendo, mas não duplica seu DNA. Em sequência a essa fase, temos a fase **S** (síntese), na qual o DNA é replicado. A conclusão da síntese de DNA é seguida pela fase **G₂** (*gap* 2), durante a qual também continua o crescimento celular, e proteínas são sintetizadas em preparação para a mitose (Figura 7.24).

Do inglês gap 1.

A duração dessas fases nos ciclos celulares das diferentes espécies é muito distinta. Ciclos celulares muito **curtos** ocorrem nas células embrionárias primordiais imediatamente após a fertilização do ovo, mas nesses casos o crescimento celular não acontece. O que acontece é que estas células embrionárias primordiais dividem o citoplasma do ovo em células menores. Nesses ciclos, não ocorrem as fases de G₁ ou G₂, e a replicação do DNA acontece muito rapidamente; portanto, uma fase S muito curta precedendo a mitose.

Cerca de 30 min ou até menos.

Entretanto, esse tempo pode variar. Em células humanas de proliferação tipicamente rápida, tem-se um total de 24h, e a fase G₁ pode durar cerca de 11h, a fase S, cerca de 8h, a fase G₂, cerca de 4h e a mitose, 1h. Mas algumas células cessam completamente a divisão celular, por exemplo, as células nervosas e as células musculares esqueléticas e cardíacas, que se tornam diferenciadas e perdem permanentemente a capacidade reprodutiva, não podendo ser novamente chamadas ao ciclo celular. Essas células permanecem indefinidamente no período de G₀ e são consideradas como sendo terminalmente diferenciadas.

No caso de perda celular por lesão, como num ataque cardíaco, essas célu-

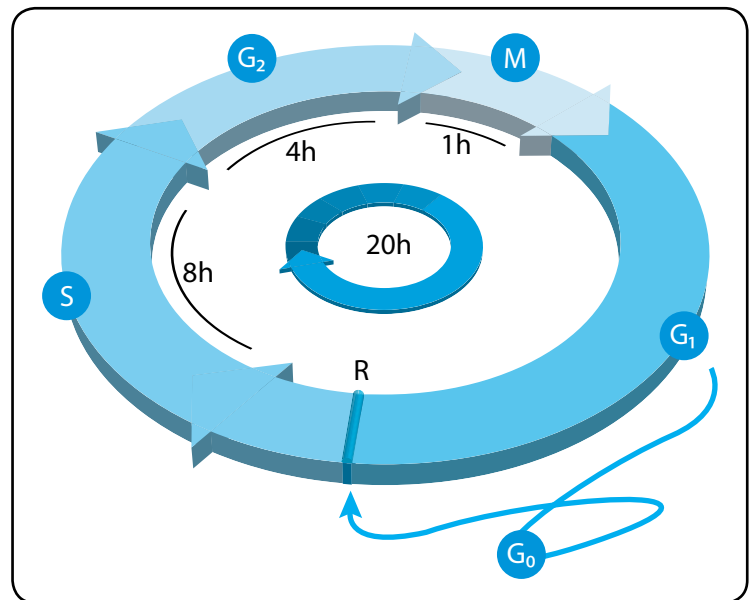


Figura 7.24 - As quatro fases sucessivas do ciclo de divisão de uma célula eucariote típica. No início da fase G₁, em resposta a sinais externos, a célula “decide” se continua em ciclo ou se assume um estado quiescente, chamado de G₀. Desse estado, ela pode voltar ao ciclo mediante estímulo. No final de G₁, existe um importante ponto de controle do ciclo, chamado ponto de restrição (R), que impede a progressão do ciclo em condições desfavoráveis ou insatisfatórias. Quando o ponto R é ultrapassado, a célula atravessa as demais fases do ciclo celular até que duas células-filhas idênticas sejam formadas ao final da mitose (M) (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 173).

las nunca poderão ser substituídas. Mas existem muitas outras células que se dividem ocasionalmente e, quando necessário, podem repor células que foram perdidas por ferimento ou morte celular programada. Estas células são desprovidas de fatores de crescimento e, portanto, mantêm um baixo metabolismo e baixa velocidade de síntese de macromoléculas, possuem geralmente um tamanho reduzido e conteúdo de DNA comumente são duplicados.

Por exemplo, os fibroblastos da pele ficam bloqueados em G_0 até que sejam estimulados a se dividirem para reparar danos resultantes de ferimentos. A proliferação dessas células é desencadeada por alguns fatores de crescimento, que são liberados das plaquetas durante a coagulação, os quais sinalizam a proliferação dos fibroblastos nas vizinhanças do tecido ferido.

Existem ainda as células que são terminalmente diferenciadas, portanto não sofrem auto-replicação, mas têm vida curta e necessitam ser continuamente substituídas no animal adulto. É o caso, por exemplo, das células sanguíneas, como os eritrócitos anucleados dos mamíferos. A substituição dessas células se dá pela proliferação de células indiferenciadas, chamadas de **células-tronco pluripotentes** (*stem cells*), que vão servir tanto de fonte de novas células-tronco, como de células diferenciadas de vida curta.

7.15 Regulação do ciclo celular pelo crescimento celular e sinais extracelulares

Um exemplo de regulação do ciclo celular por sinais extracelulares é dado pelo efeito dos fatores de crescimento na proliferação das células animais.

O curso das células através do ciclo de divisão é regulado por sinais extracelulares do ambiente, assim como por sinais internos que monitoram e coordenam os vários processos que acontecem durante as diferentes fases do **ciclo celular**. Além disso, durante o ciclo celular, todos os processos celulares, como crescimento celular, replicação do DNA e a própria mitose, devem ser coordenados.

O ponto principal da regulação do ciclo celular, em muitos tipos de células, ocorre no final da fase G_1 e controla o curso de G_1 pra S. Esse ponto de regulação foi principalmente definido em *Saccharomyces cerevisiae* e ficou conhecido como **START**. Uma vez que as

Do inglês "início".

células tenham passado pelo START, elas estão comprometidas a entrar na fase S, sofrendo um ciclo de divisão celular. Entretanto, a passagem através do START é um evento altamente regulado no ciclo celular das leveduras, sendo controlado por alguns sinais externos, como a disponibilidade de nutrientes e o tamanho celular.

Nas células animais, a fase de reentrada no ciclo celular, em que as células estão em G_0 , é sempre na fase G_1 , em um momento pouco anterior ao de transição entre as fases G_1/S , que é chamado **ponto de restrição** (Figura 7.24). O ponto R é análogo àquele inicialmente descrito para leveduras, o START. Entretanto, ao contrário do que acontece com as leveduras, a passagem através do ciclo celular nas células animais é regulada principalmente pelos fatores de crescimento extracelulares que sinalizam a proliferação celular.

Na presença dos fatores de crescimento apropriados, as células atravessam o ponto de restrição e entram na fase S. Uma vez que tenham passado pelo ponto de restrição, as células estão comprometidas a entrar na fase S e prosseguir com a divisão celular, mesmo na ausência de um fator de estímulo suplementar. Ao contrário, se os fatores de crescimento não estiverem disponíveis em G_1 , a continuação através do ciclo celular pára no ponto de restrição, e essas células entram em G_0 . Mas também as células recebem estímulos internos para a sua proliferação.

Um mecanismo de controle que ocorre em G_1 é a interrupção temporária do ciclo celular nessa fase, induzida pela presença de danos no DNA, para que mecanismos de reparo operem antes da fase de replicação. Nos mamíferos, o sinal de parada é dado em G_1 por uma proteína conhecida como **p53**, cujos níveis intracelulares aumentam em resposta a eventuais danos à molécula de DNA, impedindo que a célula prossiga e efetue a replicação do DNA danificado.

As transmissões desses danos da molécula de DNA às células-filhas podem estar relacionadas à perda das funções da p53, o que resulta em um acúmulo de mutações nas células e instabilidade genômica, que podem contribuir para o desenvolvimento de células cancerígenas. Em diferentes tipos de câncer humano são observadas mutações da p53, com a perda de sua função sinalizadora.

Embora na maioria das células a proliferação seja regulada em G_1 , em alguns ciclos celulares esta proliferação é controlada em G_2 . O principal exemplo disso é visto em algumas células animais. Os oócitos de vertebrados podem permanecer bloqueados em G_2 por longos períodos de tempo (décadas, nos humanos), até que sigam para a fase M, ao serem ativados pela estimulação hormonal.

O início do período S marca o início da síntese de DNA, e uma vez atingido esse ponto, não há mais retorno, ou seja, a célula necessariamente entra em divisão celular. É durante esse período que a célula duplica seu conteúdo de DNA, a partir da molécula preexistente. Esse processo é denominado de **replicação**.

Toda célula eucarionte diplóide inicia seu ciclo celular em G_1 com uma quantidade de DNA igual a **2C**. Durante o período S, essa quantidade duplica, passando para **4C**, e assim permanece até que, após a divisão, a célula volte a ter um conteúdo **2C**, quantidade idêntica à célula que lhe deu origem.

É importante lembrar que o genoma de uma célula eucariótica é enorme e deve ser duplicado com alta fidelidade, uma única vez a cada ciclo celular. E ainda, as células nos eucariontes apresentam o seu DNA nuclear em forma de fibras de cromatina associadas às proteínas histônicas. Portanto, é a cromatina que sofrerá duplicação nesse período, ou seja, não apenas o DNA, mas também as proteínas histônicas. Isso contraria o que acontece com as demais proteínas celulares, cuja síntese ocorre no período G_1 , e as histonas são as únicas proteínas cuja síntese acontece no período S.

No período G_2 , acontecem os preparativos para a próxima divisão celular. Apesar de nem todos os mecanismos serem bem conhecidos, sabe-se que antes de a célula passar pelo ponto de transição G_2/M , é fundamental que a replicação do DNA tenha sido completada e que os possíveis danos na molécula de DNA tenham sido reparados.

A célula permanece em G_2 até que todo o seu genoma tenha sido replicado e os possíveis danos reparados antes de serem transmitidos às células-filhas. Entretanto, não se conhece o mecanismo que

faz com que a célula permaneça em G_2 . É durante esse período que as proteínas não-histônicas, que vão se associar aos cromossomos durante a mitose, ainda serão sintetizadas e é também o período em que ocorre o acúmulo de um complexo protéico citoplasmático, denominado de **fator promotor de maturação (MPF)**.

Esse complexo foi descoberto em oócitos de sapos. Esses oócitos são bloqueados na fase G_2 do ciclo celular, até que um estímulo hormonal desencadeie sua entrada na fase M da meiose. Os oócitos, bloqueados em G_2 , receberam uma micro injeção de citoplasma de oócitos que foram estimulados com hormônios. Isso sugere que um fator presente no citoplasma dos oócitos tratados com hormônios foi suficiente para desencadear a transição de G_2 para M nos oócitos que não foram expostos a hormônios. Devido à entrada dos oócitos na mitose ser frequentemente referida como maturação do oócito, esse fator citoplasma foi chamado de **fator promotor da maturação (MPF)**. Estudos posteriores mostraram que a atividade do MPF não é restrita à entrada dos oócitos na meiose, mas também está presente nas células somáticas, induzindo a entrar para a fase M do ciclo mitótico. O MPF parece agir como regulador geral de transição de G_2 para M.

O **MPF** é considerado o regulador geral da transição de G_2 para M, induzindo a entrada na mitose e sendo responsável por quatro eventos típicos dessa fase: condensação cromossômica, ruptura do envoltório nuclear, montagem do fuso e degradação da proteína cíclica. Ainda durante o período G_2 , temos a síntese de RNAs, principalmente daqueles extranucleolares, e a síntese protéica, iniciada no período G_1 , que continua a ocorrer, somente sendo interrompida no período seguinte, a mitose.

Uma outra abordagem para o entendimento da regulação do ciclo celular foi a análise genética de leveduras. Nessas leveduras de brotamento, *Saccharomyces cerevisiae*, foram identificados mutantes sensíveis à temperatura, que eram defectivos no curso do ciclo celular. As características-chave desses mutantes, ou **cdc**, são o fato de que eles sofrem bloqueios em pontos específicos do ciclo celular.

De ciclo da divisão celular ou
cell division cycle.

Por exemplo, um mutante denominado *cdc28* causa bloqueio em START, indicando que a proteína *cdc28* é necessária para a passagem através desse ponto regulador crítico em G_1 . Também foram isolados outros mutantes de *Schizosaccharomyces pombe*, que incluem o mutante *cdc2*, que bloqueia o ciclo celular de *S. pombe* tanto em G_1 , como na transição de G_2 para M. Estudos posteriores indicaram que *cdc28* de *S. cerevisiae* e *cdc2* de *S. pombe* são genes funcionalmente homólogos necessários para a passagem através do START e posterior entrada em mitose, de ambas as espécies de leveduras. Mais tarde, um gene homólogo a esses, que codifica uma preteína-quinase de 34kDa, sendo denominada de p34, foi identificado no homem, demonstrando que a atividade desses genes controladores do ciclo é altamente conservada. Para evitar confusões de nomenclatura, a proteína codificada para *S. cerevisiae* e *S. pombe* será genericamente denominada de *Cdc2*. Basicamente, a atividade regulatória da proteína *Cdc2* consiste em transferir um fosfato do ATP aos aminoácidos serinas ou treoninas de outras proteínas-substrato.

Além dos *cdc*, foram identificados outros tantos mutantes de leveduras, que, de um modo ou de outro, também estavam envolvidos com o ciclo celular. Também foram identificados outros tipos de proteínas celulares, que se acumulavam ao longo da interfase, sendo degradadas rapidamente no final da mitose, e por causa do seu padrão cíclico de acúmulo e degradação, foram denominadas de **ciclinas**.

Esses achados culminaram com a purificação e a caracterização molecular do fator citoplasmático denominado **MPF**, que muito antes já havia sido descoberto como o indutor para a entrada da célula na mitose. Revelou-se ser a **Cdc2** composta por duas subunidades-chave: a *Cdc2* e a ciclina. A *Cdc2* seria a subunidade enzimática com a atividade **quinase de proteínas**, e a ciclina uma proteína **regulatória** que controla a capacidade da *Cdc2* para fosforilar proteínas-alvo adequadas.

Assim, a atividade do MPF seria controlada pelo padrão cíclico de acúmulo e degradação de seus próprios componentes, a ciclina.

Genericamente, a reação catalisada por uma proteína-**quinase** é a adição de um fosfato — PO_4 — a uma cadeia lateral de um aminoácido serina ou treonina, enquanto que a reação catalisada por uma **fosfatase** elimina esse fosfato.

A montagem do dímero ciclina-Cdc2, sua ativação e a posterior desmontagem são processos centrais que dirigem o ciclo celular (Figura 7.25).

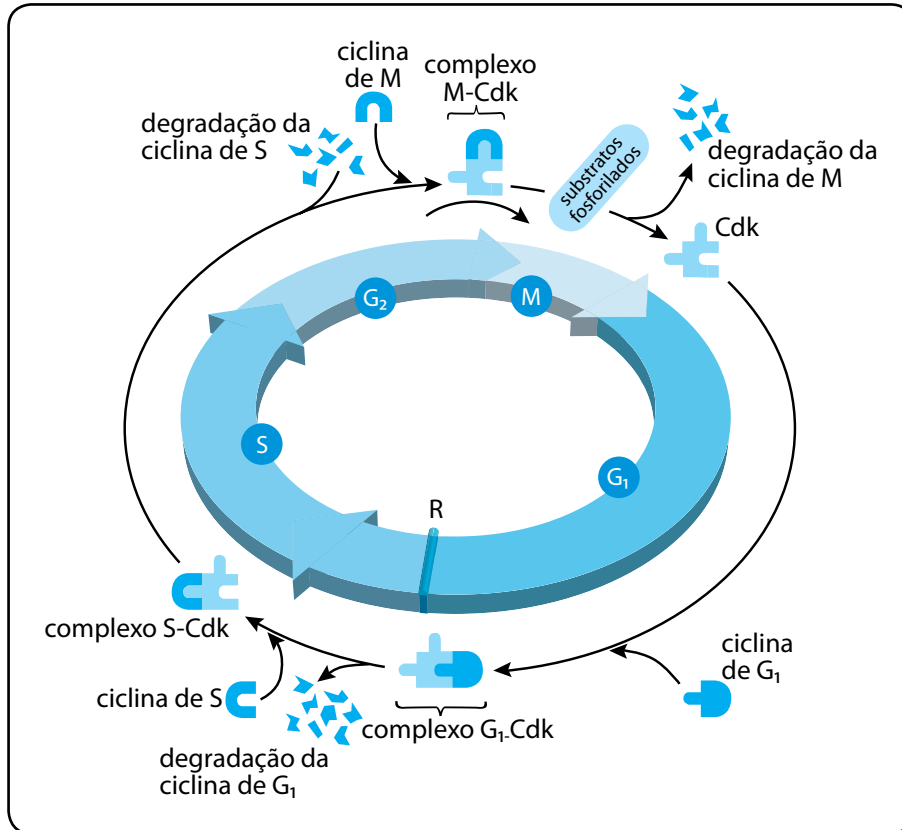


Figura 7.25 - Esquema resumido dos mecanismos que controlam os eventos bioquímicos e celulares do ciclo celular. No início de G₁, a enzima Cdc2 está dissociada da ciclina e, portanto, inativa. Durante a G₁, enquanto a célula cresce, as ciclinas de G₁ se acumulam. Quando alcançam um nível crítico, elas se ligam e ativam a enzima Cdc2. O complexo quinase ativado fosforila substratos apropriados necessários para desencadear a síntese de DNA, e, então, as ciclinas de G₁ são degradadas e o complexo quinase desativado. Em G₂, as ciclinas mitóticas se acumulam, ligam-se à enzima Cdc2 e a ativam. O complexo quinase Cdc2/ciclina (MPF) ativado fosforila novos substratos, direcionando a célula através da mitose. Então, a rápida degradação das ciclinas mitóticas leva à inativação da quinase Cdc2, o que dirige a célula para completar a mitose e entrar na interfase do próximo ciclo celular. Provavelmente, enzimas fosfatases agem, tanto em G₁, como em M, revertendo os efeitos dos complexos quinase Cdc2/ciclina. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 187).

Embora a ciclina não seja detectada na célula no início de G₁, sua síntese começa nessa fase e continua ao longo das fases S e G₂ e, à medida que ela se acumula, forma um complexo com o Cdc2: o MPF. Este, por sua vez, permanece inativado até o final da interfase. Sua ativação será a responsável pela transição G₂/M, dando entrada

na mitose. Quando esse complexo está formado, a Cdc2 está fosforilada em um resíduo de treonina e um de tirosina. Essa dupla fosforilação a mantém inativa e, conseqüentemente, o MPF também está inativo, enquanto ele se acumula durante os períodos S e G₂ do ciclo celular. Esses dois resíduos são desfosforilados pela ação de outra fosfatase, denominada de Cdc25, e, ocorrendo isso, o MPF se torna ativo e pronto para atuar como proteína-quinase, fosforilando várias proteínas-alvo importantes na mitose. O MPF induz à condensação cromossômica, à desmontagem do envoltório nuclear e à reorganização do citoesqueleto, para a montagem do fuso.

Para a condensação cromossômica no início da mitose, um dos substratos conhecidos da quinase Cdc2 é a histona H1, mas isso, ou seja, a condensação cromossômica devida à fosforilação da H1 não ocorre em todas as células. Portanto, a condensação cromossômica depende também da fosforilação de outras proteínas nucleares.

O rompimento do envoltório nuclear, ainda que envolva mudanças de todos os seus componentes, como já descrito anteriormente, resulta principalmente da fosforilação de resíduos de serina presentes nas lâminas nucleares, o que provoca a separação dos filamentos das lâminas em dímeros individuais. A Cdc2 fosforila todas as lâminas, levando a uma fragmentação e uma dissolução das lâminas e, conseqüentemente, do envoltório nuclear. Entretanto, nem só as lâminas participam desse processo como proteínas-alvo do MPF. A fosforilação de uma ou mais proteínas do complexo de poro pode ter papel na dissociação de alguns componentes e na desmontagem do envoltório nuclear. Além disso, algumas proteínas integrais da membrana interna do envoltório são fosforiladas durante a mitose, embora não se saiba se essa fosforilação está relacionada com a desorganização do envoltório nuclear.

Os filamentos de actina e os microtúbulos envolvidos na modificação da arquitetura celular para a formação do aparelho mitótico também são alvos potenciais das enzimas quinases. Nesse caso, parece que estão envolvidas as **quinases semelhantes a polos**, que regem vários eventos da mitose, incluindo a formação do fuso e o processo de citocinese, além de ajudar a manter o estado mitótico, fosforilando a fosfatase Cdc25, que ativa a Cdc2, que mantém ativo o MPF.

Plk (polo-like kinases), outra família de quinases que foram recentemente caracterizadas.

O MPF também parece ser responsável pela fosforilação de várias proteínas celulares envolvidas na mitose e durante a passagem entre metáfase e anáfase, além de ativar um sistema enzimático de degradação da própria ciclina. Esta degradação inativa a *Cdc2*, ou seja, o próprio MPF, o que leva a célula a sair da mitose e progredir para a interfase do próximo ciclo, no qual a ciclina será novamente sintetizada e acumulada até disparar uma nova mitose.

A inativação da *Cdc2* sinaliza, na telófase, para a desfosforilação das proteínas que haviam sido fosforiladas no início da mitose, o que leva à descondensação cromossômica, à restauração do envoltório nuclear e ao término da mitose.

O ciclo celular dos eucariontes superiores é controlado não apenas por ciclinas, mas também por múltiplas proteínas-quinases relacionadas com a *Cdc2*, que vêm sendo identificadas como **quinases dependentes da ciclina** (*Cdks* — *ciclin-dependent kinases*).

Diversas proteínas-quinases continuam sendo detectadas como as responsáveis por disparar os mais importantes eventos do ciclo celular. A regulamentação das quinases, feita por fosforilação reversível, é fundamental no controle da progressão do ciclo celular em todas as células dos eucariontes.

7.16 Fases da mitose

A mitose é convencionalmente dividida em **prófase**, **metáfase**, **anáfase** e **telófase** (Figura 7.26).

O início da **prófase** é marcado pela aparência gradualmente condensada dos filamentos de cromatina, que vão progressivamente se tornando mais curtos e espessos, até formar os cromossomos, que consistem em duas cromátides-irmãs, as quais carregam o material genético duplicado, resultante da interfase anterior.

As cromátides-irmãs são mantidas juntas pelo centrômero, que se liga a algumas proteínas, formando os **cinetócoros**; estes são os sítios de ligação dos microtúbulos em ocasião da formação do fuso mitótico, que começa nessa fase. Enquanto isso, no citoplasma, os centríolos, que foram duplicados durante a interfase, migram para

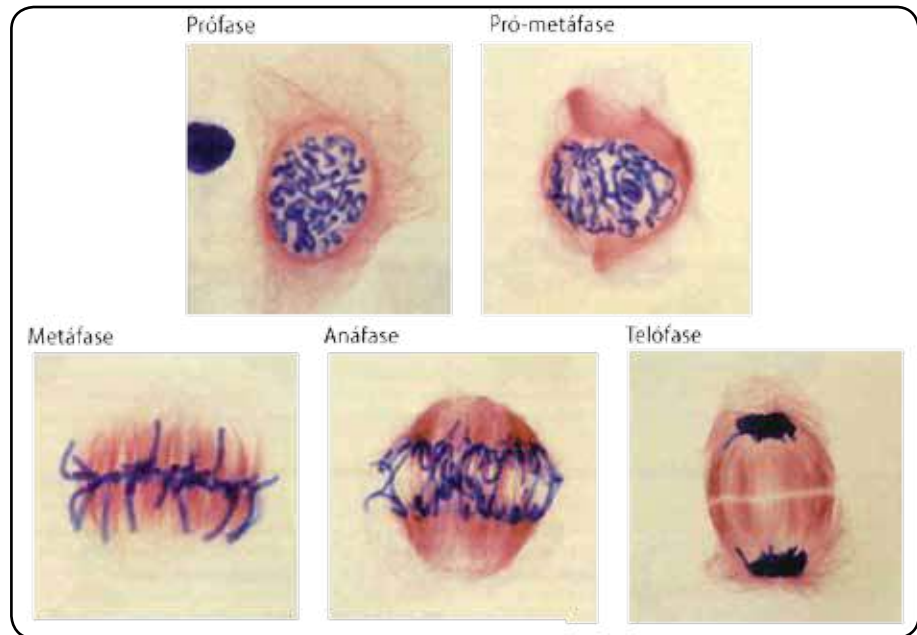


Figura 7.26 - O núcleo durante a mitose. Micrografias ilustrando os estágios progressivos da mitose em uma célula vegetal. Durante a prófase, os cromossomos condensam-se, o núcleo desaparece e o envelope nuclear rompe-se. Na metáfase, os cromossomos condensados aliam-se no centro do eixo. Assim, os cromossomos-filhos movem-se para polos opostos do eixo (anáfase), e, durante a telófase, os cromossomos descondensam-se e o núcleo forma-se novamente. Os cromossomos são corados de azul e os microtúbulos do eixo são corados de vermelho. (Ilustração baseada em COOPER, p. 361).

pólos opostos do núcleo e, juntamente com um material pericentriolar, dos quais emanam as fibras de microtúbulos radiais, formam o chamado **áster**.

Em muitos organismos superiores, o final da prófase corresponde à ruptura do envoltório nuclear em pequenas vesículas membranosas, devido à despolimerização da lâmina nuclear; mas em alguns organismos, como nas leveduras, o envoltório nuclear não se desmancha, ou seja, é uma “mitose fechada”, na qual o envoltório nuclear permanece intacto.

Alguns autores a consideram
uma fase distinta.

Após a realização da prófase, as células entram em **pró-metáfase**, que é um período de transição entre a prófase e a metáfase. É durante esse período que os microtúbulos do fuso se ligam aos cinetócoros dos cromossomos condensados, e são chamados de microtúbulos cinetocóricos.

Depois dessa fase, os cromossomos são arrastados para trás e para frente, até finalmente se alinharem na placa metafásica, no centro do fuso, entrando em **metáfase**. Nesse estágio, os cromossomos atingem o máximo de condensação, sendo o momento em que as duas cromátides são visíveis ao microscópio de luz. As forças que mantêm os cromossomos nessa posição, por curto período de tempo, são igualmente distribuídas entre os dois pólos celulares pelos microtúbulos, que são compostos por dois tipos de fibras: as polares, que partem dos centrosomos localizados nos dois pólos opostos; e as fibras livres, mais curtas e não ligadas aos pólos ou aos cinetócoros, com origem e função desconhecidas (Figura 7.27).

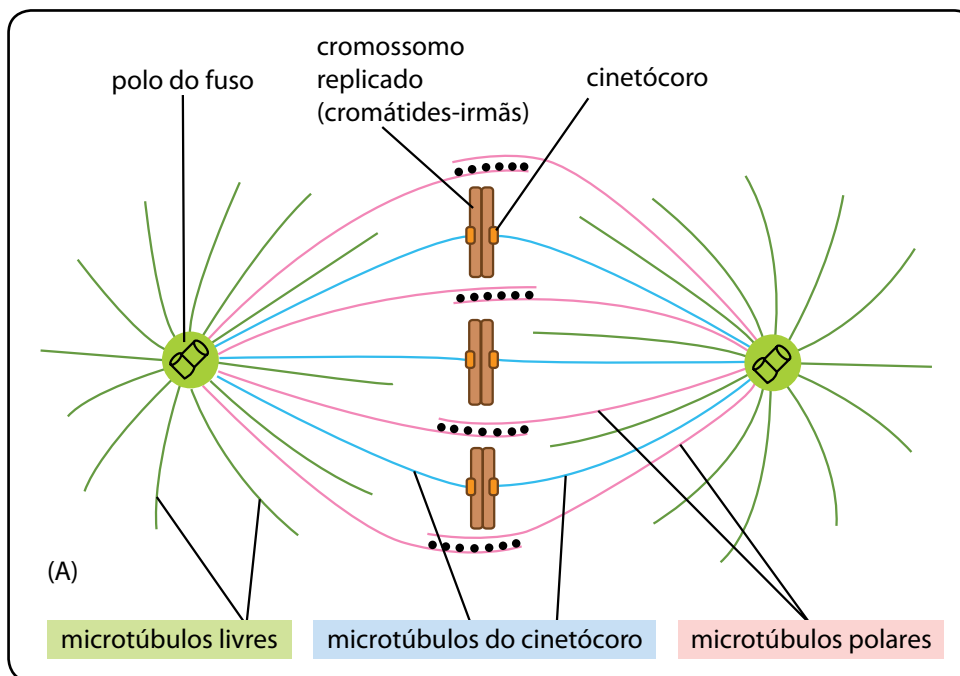


Figura 7.27 - Três classes de microtúbulos em fuso mitótico. Desenho esquemático de um fuso com cromossomos ligados, mostrando os três tipos de microtúbulos do fuso – microtúbulos livres, microtúbulos do cinetócoro e microtúbulos polares. Na verdade, os cromossomos são muito maiores do que o mostrado e normalmente múltiplos microtúbulos estão presos a cada cinetócoro. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 570).

A maioria das células permanece apenas brevemente na metáfase, antes de seguir para a **anáfase**. Nessa fase, ocorrem a ruptura do equilíbrio metafásico, a separação dos centrômeros e a conseqüente migração das cromátides para os pólos opostos, sendo agora chamadas de cromossomos-filhos. Durante a migração, os microtúbulos das fibras cinetocóricas encurtam, por perda dos dímeros de tubulina nas extremidades polares e, assim, aproximam os cromossomos-filhos dos pólos.

Não há dúvidas de que o deslizamento dos cromossomos-filhos para pólos opostos é devido à despolimerização dos microtúbulos,

pois quando esses são impedidos de se despolimerizar, por ação de drogas como a colchicina, as mitoses se estacionam na metáfase.

A mitose finaliza com a **telófase**, durante a qual os núcleos-filhos retomam novamente a forma e os seus cromossomos se descondensam. A descondensação da cromatina é acompanhada por sua capacidade de transcrição. O nucléolo reaparece, e o envoltório nuclear é restabelecido. O reaparecimento do nucléolo parece resultar de dois processos: a retomada da transcrição das moléculas precursoras dos rRNAs, a partir do DNA das NORs (Regiões Organizadoras de Nucléolos), que durante a divisão estavam presentes nas constrições secundárias, e o reagrupamento dos componentes imaturos do antigo nucléolo, que haviam sido dispersos durante a prófase e que agora podem ser identificados como corpos nucleolares.

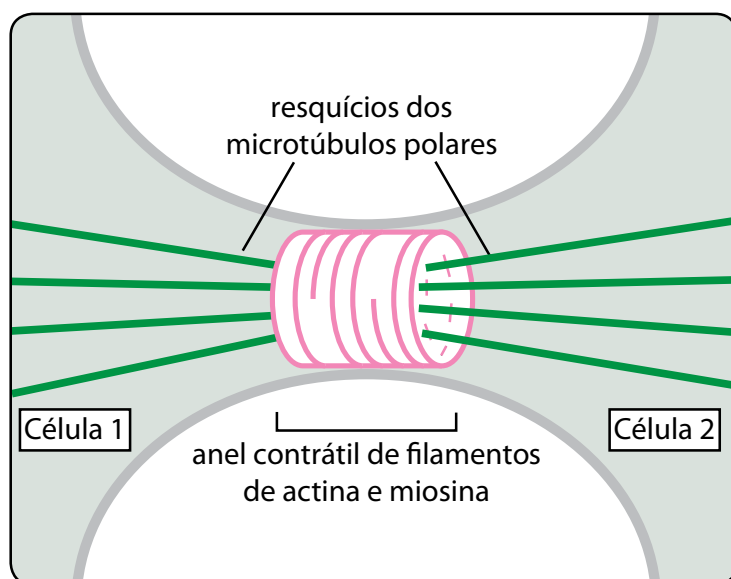


Figura 7.28 - Diagrama esquemático da região central de uma célula similar mostrando o anel contrátil abaixo da membrana plasmática e os resquícios de dois conjuntos de microtúbulos polares. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 575).

A conclusão da mitose normalmente é acompanhada pela citocinese, dando origem às duas células-filhas. A citocinese geralmente se inicia no final da anáfase e é desencadeada pela inativação do MPF (Fator Promotor de Mitose), coordenando, por consequência, a divisão citoplasmática e nuclear da célula. A citocinese é mediada por um anel contrátil de filamentos de actina e miosina que se forma abaixo de membrana plasmática. A localização desse anel é determinada pela posição do fuso mitótico, de modo que a célula é clivada em um plano que passa atra-

vés da placa metafásica, perpendicular ao eixo. A clivagem avança como contrações dos filamentos de actina-miosina, puxando a membrana plasmática para dentro e, finalmente, apertando a célula pela metade (Figura 7.28).

7.17 Meiose

O ciclo de vida somático discutido até agora resulta na produção de duas células-filhas diplóides com conjuntos genéticos idênticos,

apresentando o mesmo número de cromossomos que a célula que lhes deu origem, ou seja, células diplóides ($2n$).

A meiose, ao contrário, é um tipo especializado de divisão celular que reduz o número de cromossomos pela metade, resultando na produção de células-filhas haplóides (n). Em animais e plantas multicelulares, a meiose é restrita às células germinativas, localizadas nas gônadas desses organismos, dando origem às células sexuais ou gametas. Esse processo é denominado de **gametogênese** e resulta da divisão de uma célula germinativa diplóide em células haplóides. Além disso, por características próprias, o processo resulta na formação de quatro células diferentes geneticamente entre si e diferentes da célula-mãe.

A redução do número de cromossomos é acompanhada por dois ciclos sequenciais de divisão nuclear e celular chamados de **meiose I** e **meiose II**, com apenas um único ciclo de replicação do DNA. Assim como na mitose, a meiose I se inicia depois que a **fase S** tenha sido completada e os cromossomos parentais tenham se replicado para produzir cromátides-irmãs idênticas entre si. Entretanto, o padrão de segregação da meiose I é dramaticamente diferente do da mitose. O pareamento dos cromossomos homólogos, após a replicação do DNA, não é somente um evento-chave subjacente à segregação cromossômica meiótica, mas também permite a recombinação entre cromossomos de origem paterna e materna. Esse pareamento crítico dos cromossomos homólogos ocorre durante uma prófase ampliada da meiose I, que é dividida em cinco estágios: **leptóteno**, **zigóteno**, **paquíteno**, **diplóteno** e **diacinese** (Figura 7.29).

Geralmente é uma fase longa.

MEIOSE I e MEIOSE II

Esse período, que é dividido entre esses cinco estágios, é extremamente demorado, em comparação com a prófase da mitose. Por exemplo, na espécie humana, na formação dos gametas femininos (ovogênese), a meiose se inicia nas células da linhagem germinativa, as ovogônias dos ovários, ainda na fase embrionária do desenvolvimento, de forma que, no quinto mês de vida intra-uterina, todos os ovócitos que serão formados pela mulher (por volta de 1 milhão) já se encontram na prófa-

se I da meiose. Essas células pré-gaméticas permanecem em prófase I (no diplóteno) por vários anos, até a puberdade ou a maturidade sexual, que ocorre por volta dos 12 anos, ou até os 45-50 anos de idade, e durante essa fase da vida, 20 a 30 dessas células, a cada mês, completam a meiose I e chegam até a metade da meiose II (metáfase II, quando recebem o nome de ovócitos II). Se essa célula for fecundada, o processo meiótico termina; caso contrário, a célula se degenera e é eliminada pela menstruação.

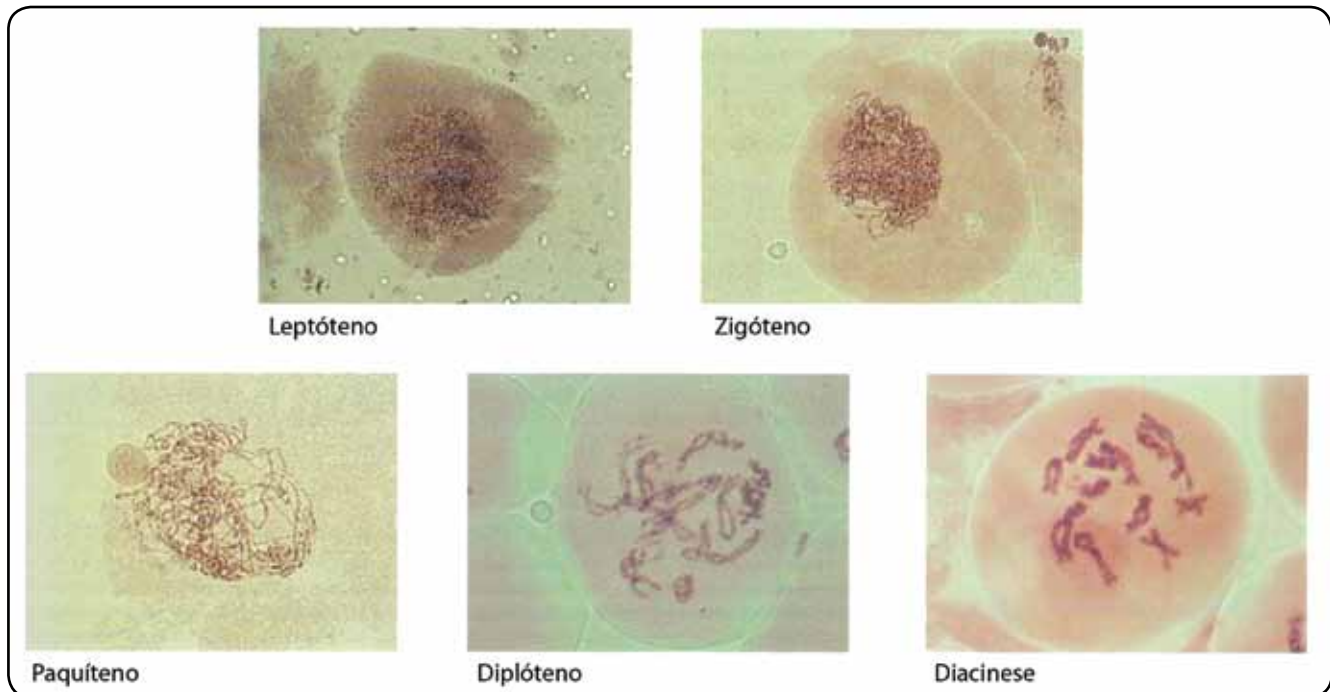


Figura 7.29 - Estágios da prófase da meiose I. Micrografias ilustrando a morfologia dos cromossomos de lírio. (Ilustração baseada em COOPER, p. 619).

A prófase I da meiose na espermatogênese é também mais lenta que a prófase da mitose; entretanto, difere do que ocorre na mulher. O início da meiose ocorre nos túbulos seminíferos dos testículos, para a formação dos espermatozóides, e ocorre apenas na puberdade, mas permanece durante toda vida. O período da prófase I é o mais demorado de toda a meiose, porque durante a prófase I ocorre o evento-chave da meiose, o pareamento dos cromossomos homólogos. Esse pareamento tem dupla importância, pois:

- a) garante a posterior disjunção dos cromossomos homólogos de tal forma que ambos os núcleos-filhos recebam um membro de cada par de cromossomos (paterno e materno); e
- b) permite que ocorram quebras e trocas de segmentos entre os cromossomos homólogos de origem paterna e materna, fenômeno denominado crossing over, permuta ou recombinação genética.

Ambos os fenômenos são bastante importantes para as espécies, por contribuírem com uma grande diversidade genética durante o processo evolutivo.

No **leptóteno**, a cromatina começa a se condensar gradualmente nos cromossomos. Nessa fase, ao microscópio de luz, são característicos pontos de maior condensação ao longo dos filamentos de cromatina, denominados de **cromômeros**, que ocorrem na mesma posição nos dois cromossomos homólogos. Neste momento, já ocorreu a duplicação dos cromossomos, revelada pela citofotometria e pela radioautografia, mas a microscopia de luz não mostra essa duplicação, pois as duas cromátides do cromossomo não são visíveis. Entretanto, à microscopia eletrônica elas são claramente reveladas.

Em nível ultra-estrutural, ainda se observa que os cromossomos estão individualmente associados a estruturas filamentosas, localizadas entre as duas cromátides-irmãs de cada cromossomo, denominadas de **núcleos axiais**, que mais tarde irão se tornar os elementos laterais do complexo sinaptonêmico. Frequentemente, as duas extremidades dos núcleos axiais estão ligadas ao envoltório nuclear, fazendo com que os cromossomos assumam uma *disposição em buquê*, que às vezes é vista na fase seguinte.

Gradativamente, os cromossomos continuam sua condensação e iniciam um processo de aproximação e pareamento dos cromossomos homólogos (**sinapses**), que se inicia na fase seguinte da prófase I, o **zigóteno**. Nessa fase, com os cromossomos homólogos ocorre uma aproximação ponto por ponto, cromômero por cromômero, mas não se fundem, ficando uma distância entre eles de, aproximadamente, 150-200nm. A microscopia eletrônica mostrou que essas sinapses são devidas à formação de uma estrutura complexa, que se dispõe longitudinalmente entre os dois homólogos, com uma estrutura semelhante a um zíper, chamada de **complexo sinaptonêmico** (Figura 7.30).

À microscopia eletrônica, o complexo sinaptonêmico mostra ser constituído por três elementos eletrodensos, paralelos entre si e ao eixo do cromossomo, sendo dois laterais e um eixo central. Cada elemento lateral está associado à cromatina de cada um dos cromossomos homólogos e é conectado ao outro elemento lateral por intermédio de componentes transversais extremamente finos do elemento central. Dessa forma, se estabelece a união entre os cromossomos do par de homólogos.

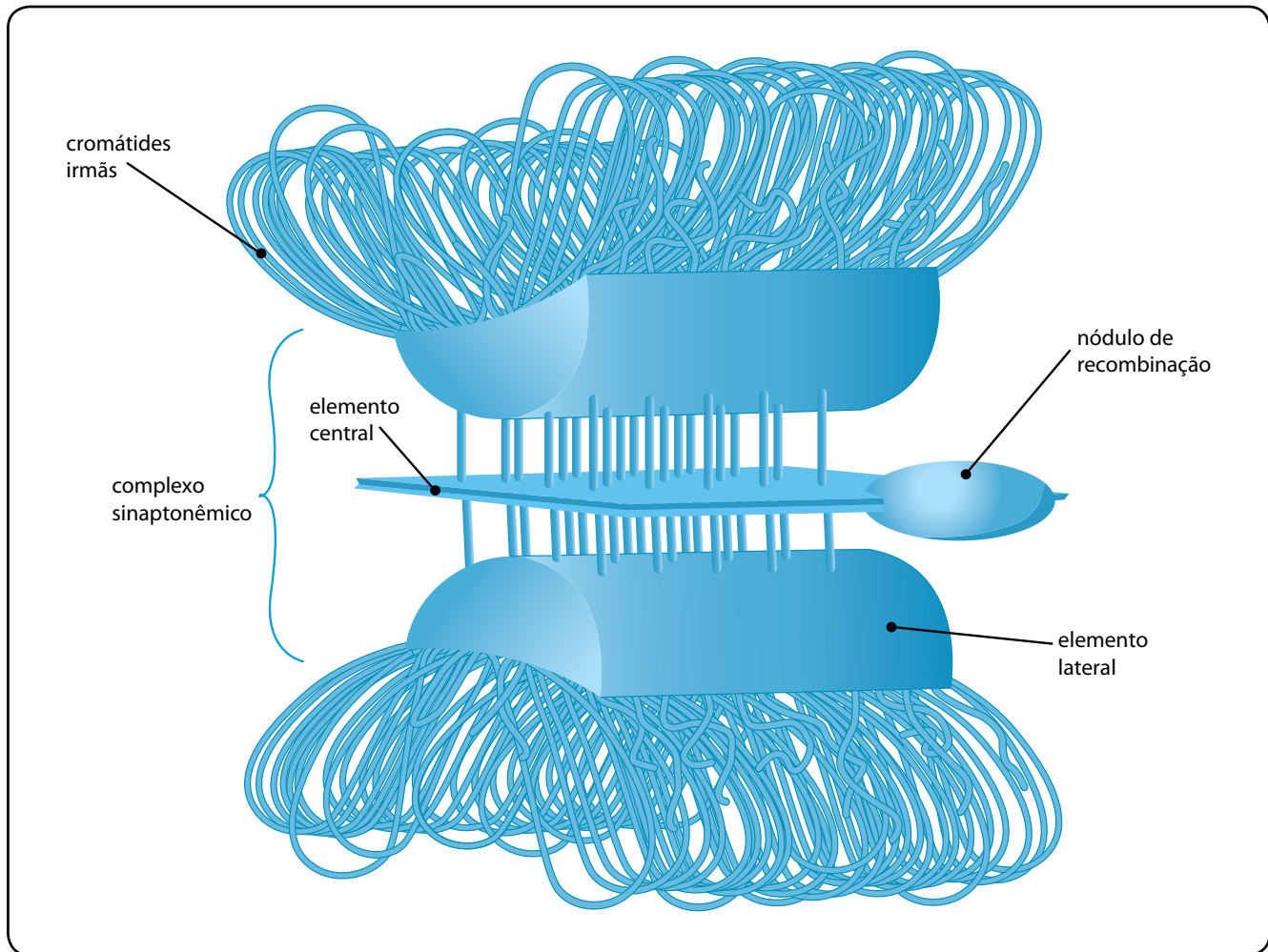


Figura 7.30 - Representação tridimensional de um complexo sinaptonêmico, com seus dois elementos laterais e o elemento central. Nele se vê também um nóculo de recombinação. Cada massa de cromatina que fica ligada imediatamente de cada lado dos elementos laterais consiste de duas cromátides. (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 191).

Quando o processo de formação sinaptonêmica é completado e todos os cromossomos homólogos estão firmemente unidos aos complexos sinaptonêmicos, se inicia o **paquíteno**. Durante essa fase, os cromossomos permanecem pareados e o conjunto constituído pelos cromossomos homólogos unidos pelo complexo sinaptonêmico é chamado de **bivalente ou tétrade**. Essa organização dos bivalentes assegura que regiões homólogas do DNA estejam unidas, de tal forma que é favorecida a ocorrência de um evento de grande importância da meiose: o **crossing over**, **permuta** ou **recombinação gênica**. A recombinação gênica é um evento molecular que envolve a troca de genes dos cromossomos de origem materna e paterna e consiste de três passos:

É chamado de bivalente porque os dois cromossomos homólogos permanecem unidos, e tétrade porque cada cromossomo homólogo é formado por duas cromátides, ou seja, quatro cromátides.

- a) quebra do DNA no mesmo nível, nas duas cromátides homólogas;
- b) formação de uma molécula de DNA híbrida, através da reunião trocada de cada filamento proveniente de cada uma das cromátides homólogas envolvidas na permuta; e
- c) substituição das bases imprópriamente pareadas nas duas moléculas de DNA híbridas (reparo).

Na fase seguinte, o **diplóteno**, o complexo sinaptonêmico desaparece, e os cromossomos homólogos separam-se ao longo de seus comprimentos. Entretanto, essa separação não chega a ser completa, mas persistem vestígios de onde ocorreu a permuta, denominada de **quiasma**.

A última fase da prófase I é a **diacinese**. Esta fase representa a transição para a metáfase, durante a qual os cromossomos estão completamente condensados. A diacinese se caracteriza pela completa repulsão dos cromossomos homólogos, o que leva à chamada terminalização dos quiasmas, que consiste em um deslocamento dos quiasmas para as extremidades dos cromossomos à medida que a separação aumenta.

Entretanto, durante a diacinese, os quiasmas são mantidos, o que é importante para a separação dos cromossomos durante a anáfase. A falta dos quiasmas pode levar a uma segregação incorreta dos cromossomos homólogos, causando doenças hereditárias.

Durante essa fase, além de os cromossomos homólogos atingirem o máximo de condensação, os nucléolos desaparecem e ocorre ruptura do envoltório nuclear em pequenas vesículas - os microtúbulos do fuso, que se prendem a cada homólogo pelos cinetócoros - e os cromossomos se movimentam em direção à placa equatorial da metáfase I.

Na **metáfase I**, os cromossomos bivalentes alinham-se no fuso, dispondo-se lado a lado na placa equatorial. Ao contrário do que ocorre na mitose, os cinetócoros das cromátides-irmãs estão adjacentes uns aos outros e orientados na mesma direção, enquanto que os cinetócoros dos cromossomos homólogos estão apontados em direções opostas aos pólos do fuso (Figura 7.31). Conseqüentemente, os microtúbulos do mesmo pólo dos fusos se ligam às

*Os quiasmas são considerados a evidência citológica do **crossing over**, já que nesse ponto revelam onde ocorreu um evento molecular, que não é visível à microscopia de luz.*

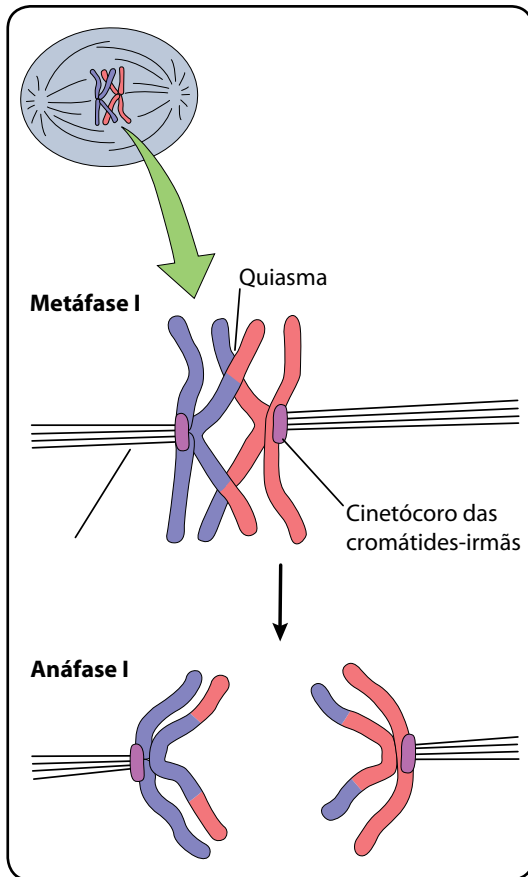


Figura 7.31 - Segregação cromossômica na meiose I. Na metáfase I, os cromossomos das cromátides-irmãs podem estar fusionados aos adjacentes. Os microtúbulos do mesmo polo do fuso são então ligados ao cinetócoro das cromátides-irmãs, enquanto que os cromossomos dos polos opostos se ligam ao cinetócoro dos cromossomos homólogos. Os quiasmas terminam na anáfase I, e os cromossomos homólogos movem-se para os polos do fuso. (Ilustração baseada em COOPER, p. 621).

cromátides-irmãs, enquanto que os microtúbulos dos pólos opostos se ligam aos cromossomos homólogos.

A **anáfase I** é caracterizada pelo rompimento do quiasma. Os cromossomos homólogos se separam, enquanto que as cromátides-irmãs permanecem unidas pelo centrômero. Portanto, na anáfase I, as cromátides-irmãs de cada cromossomo migram juntas para o mesmo pólo da célula. Ao final da meiose I (**telófase I**), cada célula-filha adquiriu, então, um membro de cada par do homólogo, constituído de duas cromátides-irmãs.

Entre as duas divisões meióticas, ocorre um estágio chamado de **intercinese**, mas nessa fase não ocorre nova síntese de DNA. As duas células na **intercinese**, resultantes da primeira divisão meiótica, são marcadas pela presença de um número haplóide de cromossomos, mas com uma quantidade $2C$ de DNA, já que cada cromossomo ainda é duplo. Temos aqui uma meiose I, que é chamada de *reducional*.

Em seguida, inicia-se imediatamente a meiose II, normalmente assim que os cromossomos tenham se descondensado completamente. Ao contrário da meiose I, a meiose II se assemelha à mitose normal. A **metáfase II** é considerada equacional do material genético, ou seja, nessa fase ocorrerá uma distribuição equitativa do conteúdo de DNA entre os núcleos-filhos resultantes.

Após uma nova etapa da prófase, na qual veremos a montagem das fibras do fuso, as células entram em metáfase II, que se caracteriza pela disposição dos cromossomos na região equatorial. Na metáfase II, são os cinetócoros das cromátides-irmãs que se orientam para os pólos opostos da célula, prendendo-se às fibras do fuso. A ligação entre os centrômeros das cromátides-irmãs é rompida na **anáfase II**, quando migram para os pólos opostos da célula. É durante a **telófase II**, última etapa da meiose II, que ocorre a citocinese, que dará origem a quatro células, cada uma com um número haplóide de cromossomos (n) e com uma quantidade C de DNA (Figura 7.32).

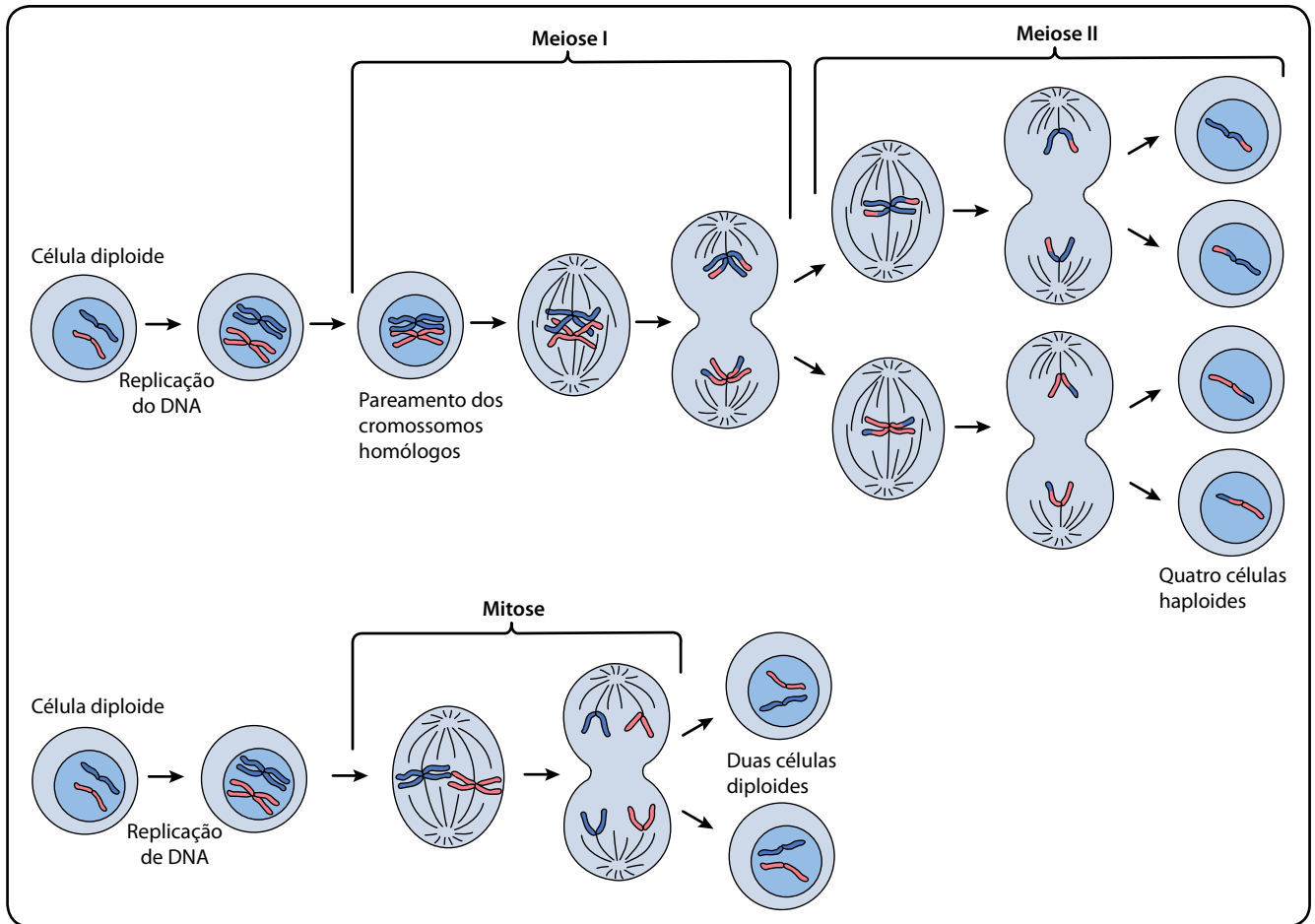


Figura 7.32 - Comparação entre meiose e mitose. Tanto a meiose quanto a mitose se iniciam após a replicação do DNA, de modo que cada cromossomo consiste em duas cromátides-irmãs. Na meiose I, os cromossomos homólogos pareiam-se e então se segregam para diferentes células. As cromátides-irmãs se separam durante a meiose II, que se assemelha a uma mitose normal. Deste modo, a meiose dá origem a quatro células-filhas haploides. (Ilustração baseada em COOPER, p. 619).

Resumo

A informação genética de uma célula eucariótica está contida, na sua maior parte, no DNA do núcleo celular, sendo que uma pequena porção de DNA está contida nas mitocôndrias e nos cloroplastos. Durante toda a vida, a célula passa por dois estágios bem distintos – a interfase, que é o período de intervalo entre duas divisões, e a divisão celular, na qual uma célula-mãe dará origem a duas células-filhas. Durante a interfase, o núcleo pode se apresentar de diversas formas, mas em todas as células eucarióticas o núcleo celular é separado do citoplasma pelo envoltório nuclear, que é constituído por duas unidades de membranas, a interna e

a externa. Este envoltório apresenta poros por onde atravessam diversas substâncias, tanto do núcleo para o citoplasma como do citoplasma para o núcleo. A passagem de algumas substâncias pelos poros requer a presença de uma proteína, a importina, que fará o transporte de moléculas maiores para dentro do núcleo, como as proteínas topoisomerasas, ou então, se forem moléculas pequenas, atravessam livremente os poros. Na face interna da membrana interna do envoltório nuclear, existe uma camada fibrosa de proteínas específicas, a lâmina nuclear. A cromatina está associada nessa rede fibrosa de proteína. O DNA, juntamente com algumas proteínas básicas, as histonas, é que formam a cromatina, que é um complexo estável. A unidade básica da cromatina é o nucleossomo, que é constituído de 200 pares de base de DNA associados a um octâmero de histonas (dois de cada tipo: H2A, H2B, H3 e H4) e à histona H1. Assim, podemos encontrar dois tipos de fibras cromáticas no núcleo interfásico: a fibra de 10nm, que é formada pela associação de nucleossomos vizinhos, e a fibra de 30nm, que é formada pelo enrolamento helicoidal da fibra de 10nm. Dessa forma, a enorme quantidade de DNA existente no núcleo das células pode se compactar, podendo se alojar dentro de um pequeno volume nuclear. A cromatina nuclear é composta pela cromatina ativa – a eucromatina, que pode estar condensada ou descondensada – e pela cromatina inativa – a heterocromatina, que sempre está condensada. Dois tipos de heterocromatina podem ser encontrados: a constitutiva e a facultativa. A cromatina constitutiva é formada por seqüências altamente repetitivas de DNA e está sempre condensada em todas as células de um mesmo organismo. A heterocromatina facultativa, por sua vez, não contém DNA repetitivo e, numa espécie ou até mesmo em um mesmo indivíduo, pode estar condensada em certas células e descondensada em outras. É o caso do cromossomo X das fêmeas dos mamíferos. As células apresentam apenas um nucléolo ou vários, e são estruturas esféricas existentes dentro do núcleo, sendo compostas por numerosas proteínas nucleolares associadas com o rRNA e pela porção do DNA que contém genes que codificam o RNA ribossômico. Além da síntese de rRNA, no nucléolo também acontece a montagem das subunidades ribossômicas, que irão se unir no citoplasma (formados os ribossomos), durante a síntese protéica.

Os cromossomos, na maioria dos organismos, são visíveis apenas durante a divisão celular, mais especificamente durante a metáfase, etapa em que os cromossomos atingem o máximo de condensação cromatínica. O cromossomo metafásico é formado por um esqueleto de proteínas ácidas, que é a estrutura responsável pela condensação da fibra cromatínica, que se liga a ele na forma de um solenóide. Cada cromossomo é constituído, por sua vez, por duas regiões longitudinais idênticas, denominadas de cromátides, que são unidas pelo centrômero. A posição do centrômero irá definir os quatro tipos de cromossomos: metacêntrico, submetacêntrico, telocêntrico e acrocêntrico. O número, o tamanho e a morfologia dos cromossomos são constantes para uma espécie.

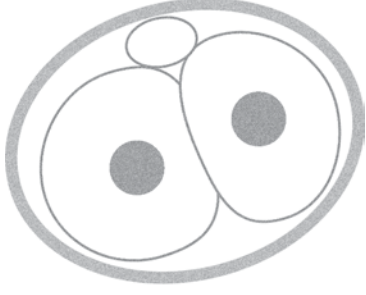
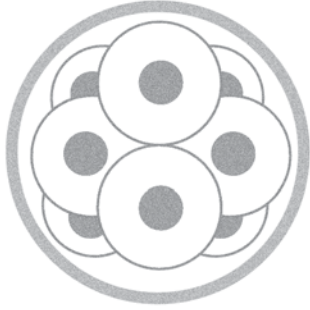
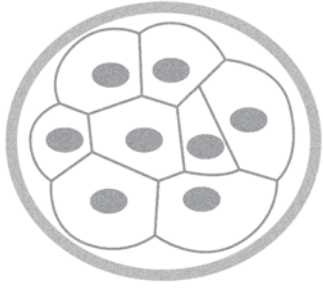
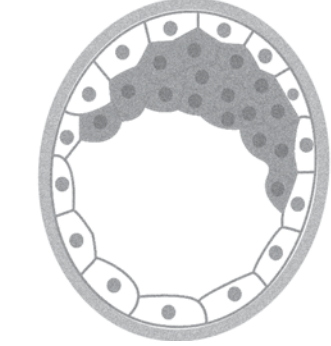
O ciclo celular é a alternância que ocorre entre uma interfase e a divisão nuclear das células, que é o processo básico de formação de novas células. A interfase representa o período compreendido entre duas divisões. Na interfase, são distinguidas três fases consecutivas: G_1 , S e G_2 . Em G_1 , temos a fase mais variável em duração: as células apresentam intensa atividade de síntese de RNA e de proteínas e um aumento marcante do citoplasma das células recém-formadas. Na fase S, ocorre a duplicação do conteúdo DNA da célula. Essa duplicação do DNA é semiconservativa, ou seja, as cadeias da dupla-hélice de DNA se separam e, a partir de cada uma delas, uma nova cadeia é sintetizada replicando, portanto, a molécula original. Na fase G_2 , acontece ainda discreta síntese de RNA e de proteínas que são essenciais para a mitose. É durante esse período que ocorrem o acúmulo e a atividade do fator promotor de maturação, que é um regulador crítico da mitose em todas as células eucariontes. Tendo passado pelas fases da interfase, o núcleo entra, então, em mitose (ou divisão celular). A mitose é dividida, didaticamente, em quatro fases distintas, em que ocorrem as principais alterações morfológicas e a movimentação dos cromossomos. Na prófase, os cromossomos iniciam seu processo de condensação, os nucléolos desaparecem, e formam-se feixes de microtúbulos a partir dos centrossomos, que irão constituir o fuso mitótico. É no final dessa fase que é verificada a fragmentação do envoltório nuclear, e os microtúbulos estabelecem contato com os cinetócoros dos cromossomos. Na metáfase, os cromossomos atin-

gem a maior condensação, dispõem-se numa placa na zona equatorial da célula, presos a microtúbulos do fuso e por eles ligados aos pólos opostos da célula. Na anáfase, os centrômeros de cada cromossomo se dividem longitudinalmente, e as cromátides-irmãs (agora cromossomos-filhos) são movidas para os pólos opostos da célula, com a participação os microtúbulos do fuso. E, finalmente, na telófase, os cromossomos-filhos chegam aos pólos, o envoltório nuclear é restabelecido, assim como a descompactação dos cromossomos e a reorganização dos nucléolos. Após a reconstituição dos núcleos-filhos, completa-se a divisão celular, após a divisão do citoplasma, ou citocinese, originando duas células-filhas independentes e iguais à célula que lhes deu origem.

As células da linhagem germinativa, por sua vez, multiplicam-se por divisões mitóticas, da mesma forma que o observado nas células somáticas. No entanto, quando essas células entram no processo da gametogênese, a divisão adquire aspectos especiais. Essa divisão tem o nome de meiose, e consiste basicamente em duas divisões nucleares, com síntese de DNA apenas uma vez, antes da primeira divisão. Em consequência disso, no final da divisão meiótica teremos quatro células-filhas, com conteúdo de DNA reduzido à metade. A prófase meiótica da primeira divisão é especial, pois é nessa fase que ocorre o emparelhamento dos cromossomos homólogos, no qual poderá ocorrer o *crossing-over* ou permuta, que são trocas de pedaços de cromossomos entre si. Os cromossomos homólogos permanecem unidos em alguns pontos denominados de quiasmas, que são pontos resultantes de trocas (permuta) até a metáfase. Na anáfase, como não ocorre divisão dos centrômeros, as duas cromátides que constituem os cromossomos homólogos se mantêm unidas. A segunda divisão ocorre, geralmente, após o final da telófase da primeira divisão e é semelhante a uma mitose, pois nessa etapa ocorre a separação das cromátides-irmãs, após a separação dos centrômeros. Assim, cada célula-filha terá a metade do número de cromossomos e também a metade do conteúdo de DNA que existia na célula-mãe. Na meiose, como as células formadas têm metade do conteúdo de DNA da célula-mãe, com a união entre duas células (oriundas do pai e da mãe) ou dos gametas haplóides (n), se restabelecem novos indivíduos com nú-

mero diplóide ($2n$) de cromossomos, característicos da espécie. A mistura dos cromossomos de origem paterna e materna que ocorre durante a primeira divisão meiótica, assim como a permuta dos genes, aumenta a variabilidade genética dos indivíduos de uma população, que é um dos requisitos fundamentais para que ocorra a evolução das espécies.

CAPÍTULO 8



Diferenciação Celular

Neste capítulo, estudaremos o processo de diferenciação celular que leva o aparecimento de células especializadas. Iremos, identificar os fatores internos e externos envolvidos neste processo, além disso, mostrar que a diferenciação celular depende, principalmente, da expressão de certos genes e repressão de outros. Mostrar também, que uma célula especializada exerce com maior eficiência uma função específica, com isso, aumentando a eficiência do conjunto de células que constitui os seres vivos.

8.1 Introdução

Zigoto

É a célula que tem o potencial máximo, podendo formar todas as células do nosso organismo. Assim, esta célula é caracterizada como **totipotente**.

Nosso organismo é constituído por trilhões de células e que estão organizadas para formar os diversos tecidos do nosso corpo. Todas elas se originam de uma única célula chamada **zigoto**. À medida que o zigoto se divide e o embrião cresce, grupos de células, através do processo de diferenciação vão se tornando diferentes na estrutura e na função. Embora que a diferenciação celular é melhor visualizada na embriogênese, esses processos também ocorrem nos modelos de diferenciação nos adultos, como na diferenciação de células de revestimento, na espermatogênese, na hematopoese, assim como podem ser ativados nos eventos de reparo e de cicatrização.

Na diferenciação celular ocorrem uma série de controles de expressão, que tendem a definir as vias bioquímicas e morfológicas de uma célula, capacitando-a eficazmente para uma determinada função em detrimento de muitas outras. Durante o crescimento de um organismo, as células sofrem um processo de diferenciação que as tornam morfológicamente diferentes, adquirindo funções e estruturas diferentes apesar de terem a mesma informação genética.

Estas células diferenciadas podem atuar isoladamente – como os gametas ou podem agrupar-se em tecidos, como o tecido epitelial e o nervoso. Apesar de diferenciadas, as células mantêm o mesmo código genético da primeira célula (zigoto). A diferença está na ativação e inibição de grupos específicos de genes que determinarão a função de cada célula.

A diferenciação celular é um processo biológico muito complexo, uma vez que regula a expressão de um grande número de genes ligados a funções tecido-específicas e controla a proliferação celular. O processo compreende diversas etapas: dentre elas, destacam-se: a proliferação de células progenitoras ou células-tronco (*stem cells*), e que respondem a **estímulo mitogênico**; a ativação e/ou repressão de inúmeros genes; a expressão de proteínas de determinadas linhagens, que mediam funções biológicas específicas; e por fim, a diferenciação finaliza com a perda irreversível do potencial proliferativo da célula.

São estímulos que a célula recebe do meio extracelular.

Desta forma, o organismo animal se apresenta constituído por diversos tipos de células que exercem funções específicas. Esta especialização celular está evidente na diversidade de morfologias celulares presentes no organismo adulto e é consequência da expressão gênica seletiva adquirida durante o processo de diferenciação. Por exemplo, o neurônio expressa proteínas necessárias para sua função que não estão presentes em um miócito (célula do músculo) e vice-versa.

Portanto, uma célula especializada exerce com maior eficiência uma determinada função específica, com isso aumentando a eficiência do conjunto de células que constitui os seres vivos.

8.2 Diferenciação e potencialidade

A diferenciação será mais bem compreendida considerando-se que cada célula é dotada de duas características: a **diferenciação** e a **potencialidade**. Em geral, a capacidade de divisão de uma célula é inversamente proporcional ao seu grau de diferenciação. Em qualquer tipo celular, quanto maior for a potencialidade, menor será a diferenciação, e vice-versa. As primeiras células embrionárias (blastômeros) da maioria das espécies animais podem originar qualquer tipo celular (Figura 8.1). Estas células são denominadas de **totipotentes**.

Grau de especialização da célula.

Potencialidade

É a capacidade que a célula tem de originar outros tipos celulares.

Totipotente

Célula-tronco capaz de se diferenciar em qualquer tecido do organismo humano.

8.3 Diferenciação e gástrula

A diferenciação celular começa na fase embrionária de gástrula. Uma vez acumulado um número suficiente de células, inicia-

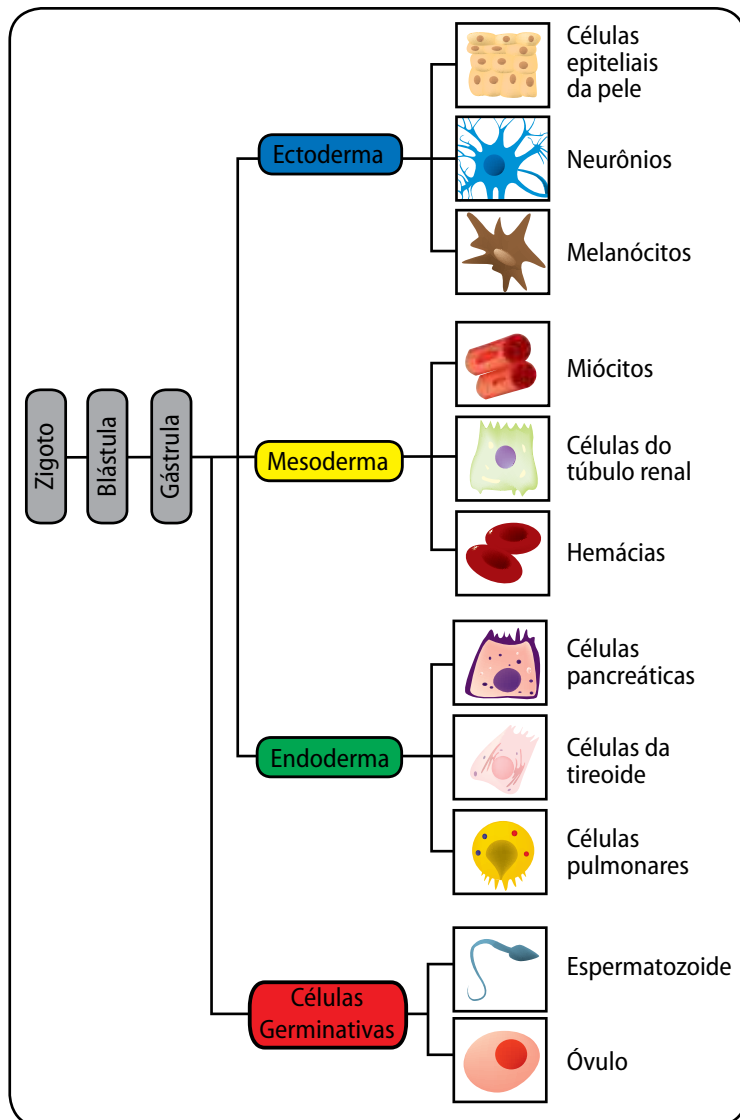


Figura 8.1 - Desenho esquemático ilustrando o processo de diferenciação celular durante a embriogênese. As células do embrião se diferenciam nos três folhetos embrionários (**ectoderma**, **mesoderma** e **endoderma**), a partir dos quais serão formados todos os tecidos que compõem o corpo (Ilustração baseada em JUNQUEIRA & CARNEIRO, p. 219).

se a gastrulação (Figura 8.2). Na gastrulação as células do exterior do embrião dobram-se para o interior para formar a cavidade intestinal e criar as três camadas germinativas - **endoderma**, **mesoderma** e **ectoderma** - a partir das quais são construídos os animais superiores (Figura 8.3). Neste estágio, o embrião é conhecido como gástrula. É na gastrulação que as células do embrião iniciam o processo de transcrição, e pela primeira vez ocorre a expressão gênica a partir do genoma zigótico. Os rearranjos celulares de gastrulação e o início do controle zigótico de transcrição gênica são eventos essenciais para a diferenciação celular. É durante a gastrulação, que a

diferenciação celular efetivamente começa a ocorrer no embrião. Neste estágio, há uma intensa migração celular, comumente referida como movimentos morfogenéticos. No processo de rearranjo celular embrionário, participam macromoléculas no interior das células, a matriz extracelular e o citoesqueleto. Moléculas da matriz extracelular interagem com receptores da membrana das células, ativando diversas proteínas no seu interior que vão agir sobre o citoesqueleto. É também por interação com moléculas da matriz extracelular que as células migram. Desta forma, no desenvolvimento embrionário existe uma intensa comunicação entre as células, e estas com a matriz extracelular, para coordenar a organização do corpo do embrião.

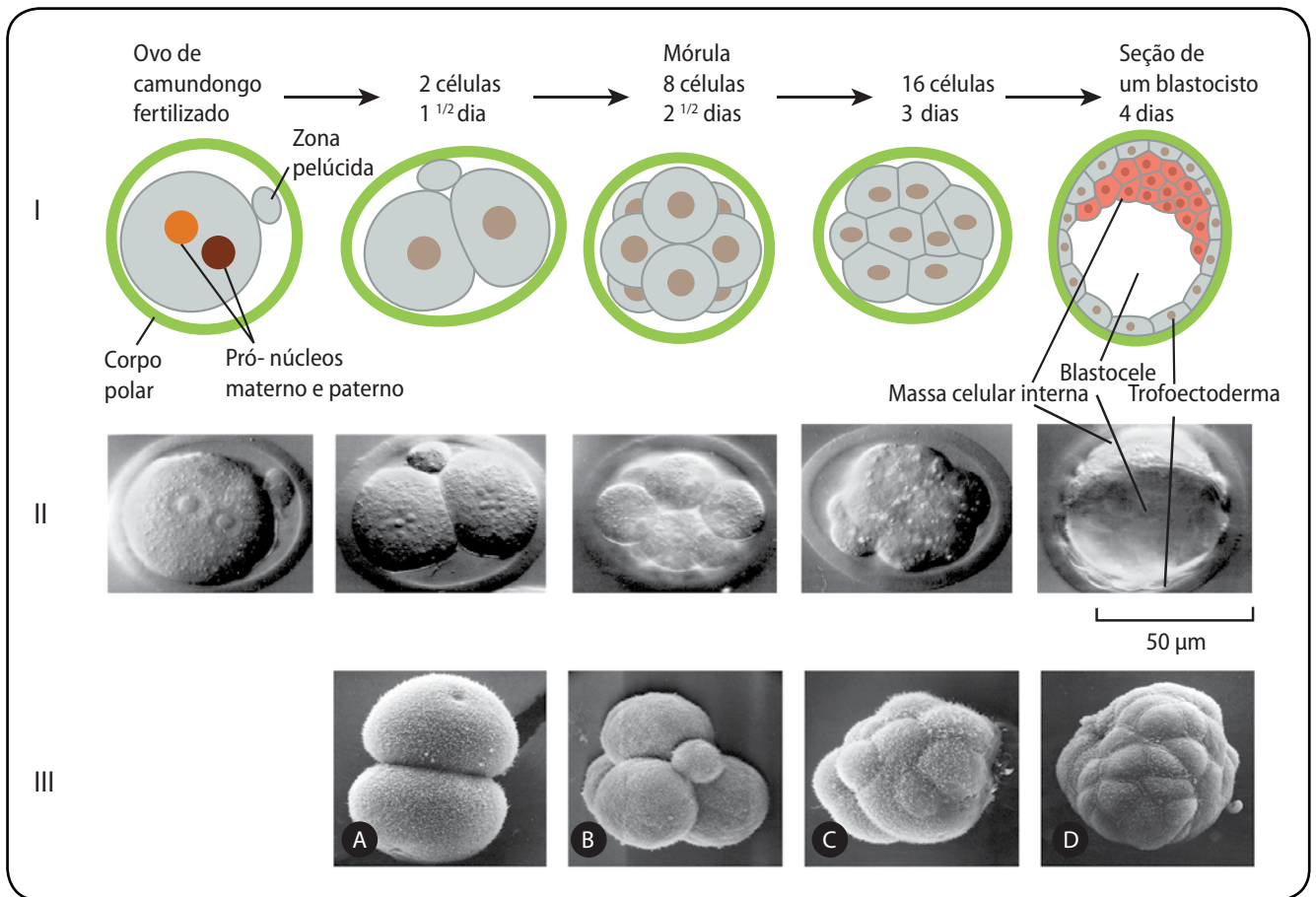


Figura 8.2 - **Os estágios iniciais do desenvolvimento do camundongo.** (I) e (II) Desenho e Fotografia, respectivamente, mostrando os estágios iniciais do desenvolvimento. Após alguns dias, o embrião se livra do envoltório glicoproteico – zona pelúcida – e se implanta na parede do útero. (III) Micrografia eletrônica de varredura do embrião jovem de camundongo. A zona pelúcida foi removida. (A) Estágio de duas células. (B) Estágio de quatro células (um corpo polar é visível além dos quatro blastômeros). (C) Mórula com 8 a 16 células – compactação ocorrendo. (D) Blastocisto. (A-C, cortesia de Patrícia Calarco; D, a partir de P. Calarco e C.J.Epstein, Dev.Biol. 32:208-213, 1973. © Academic Press.) (ALBERTS et al., p. 1224).

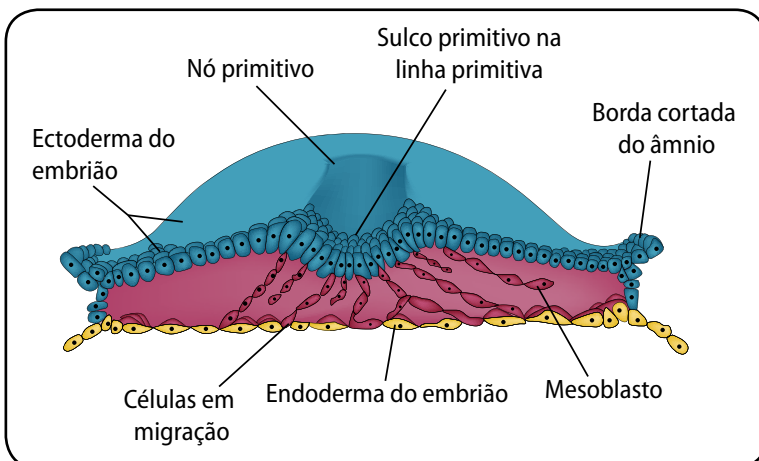


Figura 8.3 - Desenho esquemático ilustrando a presença dos três folhetos embrionários (endoderma, mesoderma e ectoderma) (Ilustração do site www.seikienokawa.wordpress.com).

8.4 A diferenciação e expressões gênicas

O padrão de movimentos celulares é direcionada pelo padrão de expressão gênica, a qual determina as propriedades da superfície celular e motilidade. Assim, a formação dos somitos depende de um padrão periódico de expressão gênica, que é estabelecido por um oscilador bioquímico no mesoderma e dita a maneira em que a massa de células irá dividir-se em blocos separados.

A deflagração do controle de expressão gênica do genoma embrionário permite a produção seletiva de proteínas celulares que serão imprescindíveis para as funções celulares específicas ao final do processo de diferenciação. Todas as células de um organismo têm os mesmos genes. As modificações celulares que ocorrem na diferenciação resultam na inativação de certos genes e da ativação de outros no genoma. Num organismo adulto, cada célula tem codificada em seu DNA a informação necessária para sintetizar todas as proteínas para a formação de um organismo completo, mas apenas uma porção seletiva de proteínas é produzida em cada célula. Por exemplo, as células musculares são diferentes das células epiteliais, porque os genes ativos são diferentes. Essa diferença de atividade gênica que ocorre nas células, é resultado da transcrição seletiva de certos genes, e outros que não são transcritos.

8.5 Diferenciação, ativação e inativação gênica

Durante a diferenciação, há ativação de certos genes e inativação de outros. Os mecanismos de controle gênico podem ser classificados em transcricionais e pós-transcricionais. Estes eventos são regulados pela ação conjunta de fatores intracelulares e extracelulares, que por sua vez são determinados pela comunicação célula-célula e célula-meio ambiente.

O controle transcricional regula a disponibilidade (ativação e inativação gênica) do DNA, para gerar mRNA. A ativação gênica é mediada por proteínas nucleares (conhecidas como proteínas ativadoras de genes ou fatores de transcrição), que reconhecem sequências específicas no DNA (regiões de controle gênico) e fa-

vorecem a aproximação das proteínas necessárias para a transcrição propriamente dita, como a RNA-polimerase.

Os fatores de transcrição importantes para a diferenciação celular são específicos para cada tipo celular. Como exemplo, a presença de fatores de transcrição do músculo é essencial nas fases iniciais da diferenciação muscular. Estas proteínas são expressas apenas em precursores de miócitos que é fundamental para iniciar a transcrição de genes específicos para as células musculares.

Por outro lado, a inativação seletiva de genes é igualmente importante durante o processo de diferenciação, porque a medida que a célula se diferencia, ela perde a potencialidade. Esta perda se dá pela inativação gênica.

Em plantas e animais multicelulares, a produção de diferentes proteínas regulatórias em diferentes tipos celulares garante a expressão de somente aqueles genes apropriados para aquele tipo de célula.

Uma única proteína regulatória, se expressada numa célula precursora apropriada, pode disparar a formação de uma célula especializada ou mesmo de um órgão inteiro.

8.6 Controle da diferenciação celular

A diferenciação celular é o resultado de estímulos externos (fatores de crescimento) e internos (genética). Os processos de diferenciação celular ocorrem tanto nos vegetais quanto nos animais. Para que isto ocorra, será necessário uma intensa comunicação célula-célula e célula-ambiente. Os fatores intracelulares se encontram nas próprias células em diferenciação.

A capacidade da célula de responder a estímulos extracelulares ou iniciar modificações depende das vias de sinalização celulares disponíveis no seu repertório. Como exemplo, uma célula que não é capaz de expressar receptor para uma determinada molécula na sua membrana seria incapaz de responder à presença desta no meio extracelular. Com relação aos fatores intracelulares derivam do programa existente no DNA da célula, ou no caso do zigoto, de material previamente acumulado no seu citoplasma.

Os componentes da matriz extracelular também atuam sobre o comportamento e a diferenciação das células. Além da ação de células vizinhas, sabe-se que vários hormônios, fatores de crescimento, produzidos em células distantes também afetam a diferenciação e o metabolismo celular.

8.7 Diferenciação de embriões e de organismos adultos

Sabemos que os órgãos logo após o nascimento, ainda não se encontram totalmente diferenciados. Por exemplo, o pulmão e o fígado ainda não estão completamente diferenciados. O mesmo acontece com o sistema nervoso que também não está completamente desenvolvido. A neurogênese no organismo adulto, como por exemplo em peixes e anfíbios é importante para o crescimento ocular, que continua pela vida toda do animal. Um exemplo único de diferenciação são as glândulas mamárias, pois estacionam na fase inicial da diferenciação das glândulas exócrinas, isto é, na fase de formação dos ductos. Durante o período da gravidez, o processo de diferenciação reinicia sob estímulos de diversos hormônios, formando os ácinos, que passam a secretar logo após o parto. Após o término da lactação, o processo reverte-se. Trata-se, pois de uma glândula cuja diferenciação só se completa na gravidez e é reversível após a lactação.

Sabemos que a diferenciação pode ser revertida, através do processo de clonagem e regeneração, para isto, será necessário uma desprogramação nuclear.

8.8 Diferenciação e células tronco

Uma outra fonte de reposição e regeneração de tecidos no organismo adulto são as células tronco. São células pouco diferenciadas que se dividem continuamente durante toda a vida de um organismo. A principal função dessas células é manter uma reserva celular constante que pode diferenciar-se em tipos especializados, conforme o tecido considerado. As células tronco já expressam

genes que determinam seus destinos, os chamados genes marcadores. Por exemplo, as células tronco do epitélio intestinal estão preparadas para originar as células com capacidade de absorver os nutrientes da dieta alimentar e as caliciformes com função de produzir glicoproteínas para são exportadas para lubrificar a superfície do intestino. Todavia, um determinado número de células tronco, permanecem como tais, isto é, não se diferenciando, e assim mantendo uma reserva tecidual de células tronco.

Duas fontes de células tronco têm gerado interesse entre os pesquisadores, devido o seu potencial terapêutico: o tecido nervoso e a medula óssea. A descoberta de células tronco no tecido nervoso, surpreendeu os cientistas. Atualmente, é reconhecido que existe regiões restritas do tecido nervoso pequenas populações de células proliferantes.

Foi estabelecido que as células tronco da medula óssea vermelha têm potencialidade para originar todas as células do sangue (leucócitos neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos, e também as hemáceas e plaquetas. Mais recentemente, foi observado que as células tronco da medula óssea vermelha são capazes de produzir outros tipos celulares além das células sanguíneas.

Além do seu uso no tratamento de certas doenças relacionadas com o sangue, as células-tronco começam a ser usadas para produzir células caliciformes, ósseas, abrindo a possibilidade terapêutica de neoformação e também na reconstituição de tecidos que foram destruídos por doenças sejam hereditárias ou adquiridas.

8.9 Diferenciação e câncer

A diferenciação é um estado biológico da célula em que são ativados genes da especialização ou função celular, enquanto os demais permanecem em repouso. As células **neoplásicas**, embora anormais, são consideradas tipos diferentes de células diferenciadas. É possível que, em células tumorais, haja uma programação incorreta da atividade gênica, por mecanismos genéticos ou não-genéticos, para produzir esse tipo de diferenciação.

- **Neoplásica**
- É o resultado de uma
- alteração permanente
- numa célula, capaz de ser
- transmitida a células filhas.

O câncer é uma doença associada a alterações genéticas múltiplas, originando-se a partir de uma única célula normal que acumulou mutações após sucessivas divisões celulares. As células proliferam desobedecendo aos controles normais, isto é, elas são células neoplásicas e são capazes de invadir e colonizar os tecidos vizinhos.

Para que uma célula cancerosa crie metástase, ele deve se soltar do tumor primário e ter a capacidade de invadir os tecidos vizinhos. Essa capacidade invasiva é a propriedade que define os tumores malignos que apresentam padrão de crescimento desordenado e bordas irregulares que se estendem penetrando nos tecidos vizinhos. Apesar da capacidade invasiva não ser totalmente compreendida, é quase certo que na célula cancerosa, ocorra algum distúrbio nos mecanismos de adesão, que normalmente mantêm a coesão entre as células que fazem parte de um tecido.

Por originarem tumores secundários, ou metástases, fica difícil erradicá-las através da cirurgia. Sabe-se que a maioria dos cânceres origina-se de uma única célula que sofreu uma mutação inicial. As células que vão se originar desta através do processo mitótico deve sofrer ainda outras mutações, que puderam ou não originar células anormais.

Atualmente sabe-se que o câncer resulta de alterações estruturais e/ou funcionais em genes cuja função é controlar o crescimento normal e a diferenciação das células que compõem o organismo e, ainda, que estas alterações envolvem tanto a ativação de proto-oncogenes quanto à inativação de genes supressores de tumor.

O “aparecimento” do câncer leva a uma profunda alteração no sistema de regulação da proliferação e da diferenciação celular. Sabemos que na maioria dos tecidos, as células se dividem de forma controlada. Por outro lado, pode ser observado que nas células que apresentam essa doença o controle é perdido e ocorre uma proliferação celular de forma desordenada, isto é, acima das necessidades do tecido.

Aqui estão algumas das propriedades-chave que capacitam as células a se transformarem em malignas: ignorar os sinais externos e internos que regulam a proliferação celular; evitar a apoptose;

perder a adesão celular e a capacidade de sobreviver e proliferar em outros ambientes.

Para o tratamento do câncer necessita-se entender as propriedades características que as células cancerosas adquirem à medida que evoluem, se multiplicam e se disseminam. Essas propriedades incluem alterações nas vias de sinalização celular fazendo com que as células tumorais ignore os sinais do meio ambiente que normalmente mantêm a proliferação sobre controle.

Ao lado da proliferação e diferenciação celular, existe também a eliminação das células que não são mais necessárias para o nosso organismo. Essa eliminação é realizada através de um processo chamado de apoptose, que resulta em benefício para o organismo como um todo, pela eliminação de apenas algumas células. Portanto, apoptose é um tipo de morte celular altamente regulada, que possui importante papel durante o processo de diferenciação, crescimento e desenvolvimento dos tecidos adultos normais e patológicos.

Resumo

Diferenciação celular é um conjunto de processos que transformam uma célula indiferenciada em uma célula especializada – resultado da atuação de uma série de controles de expressão, que tendem a definir as vias bioquímicas e morfológicas de uma célula, capacitando-a eficazmente para uma determinada função em detrimento de muitas outras. Durante o crescimento de um organismo, as células sofrem um processo de diferenciação que as tornam morfolologicamente diferentes, adquirindo funções e estruturas diferentes apesar de terem a mesma informação genética. A diferenciação celular constitui um processo biológico muito complexo e vital, uma vez que regula a expressão de um grande número de genes ligados a funções tecido-específicas e controla a proliferação celular. Portanto, uma célula especializada exerce com maior eficiência uma função específica, com isso aumentando a eficiência do conjunto de células que constitui os seres vivos.

CAPÍTULO 9



Apoptose

Neste capítulo, estudaremos a apoptose, indicando sua importância e destacando seus pontos positivos e negativos. Iremos citar as moléculas envolvidas nesse processo e identificar as características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas das células em apoptose e das células em necrose. Ao final, iremos descrever o papel das mitocôndrias nesse processo.

9.1 Introdução

Nos últimos anos, testemunhamos uma explosão de interesse no uso das **células-tronco** como ferramenta para terapia celular e gênica. Isto tem sido impulsionado devido a inúmeras descobertas, mas em especial, a de que estas são capazes de se diferenciar em células de diversas linhagens.

Presentes nos mais diversos tecidos e responsáveis pela regeneração destes no decorrer da vida, células-tronco como as hematopoéticas, as mesenquimais, as endoteliais, as neurais, dentre muitas outras, das mais diversas origens e com diferentes potenciais de diferenciação e proliferação, vêm sendo amplamente estudadas.

Atualmente, a medicina regenerativa desponta como uma modalidade terapêutica promissora, com a possibilidade de tratamento de diversas doenças, por exemplo a de Parkinson, o diabetes, a insuficiência cardíaca crônica, a insuficiência hepática, dentre muitas outras.

Cada célula possui um ciclo de vida. A **apoptose** é um processo de morte celular programada, que está determinada geneticamente e é também influenciada por agentes tóxicos do ambiente. Este processo envolve a ativação de um programa genético para o dismantelamento da célula.

“Apoptose” é derivado do grego e significa “o ato de cair”, como caem as folhas das árvores no outono, ou seja, é o mecanismo pelo qual as células promovem a sua autodestruição de modo programado, no caso, necessária ao bom funcionamento e à sobrevivência do organismo.

O termo “apoptose” foi introduzido em 1972, pelo australiano John Kerr e os colaboradores escoceses Andrew Wyllie e Alastair Currie, a partir de observações em timócitos.

Segundo Duke et al (1996), apoptose é um fenômeno singular no qual milhões de células de nosso organismo morrem a todo o momento. Há indicadores de que a saúde de todos os organismos multicelulares, incluindo o homem, depende não somente da capacidade do corpo de produzir novas células, mas também da capacidade de cada célula se auto-destruir quando se torna enferma.

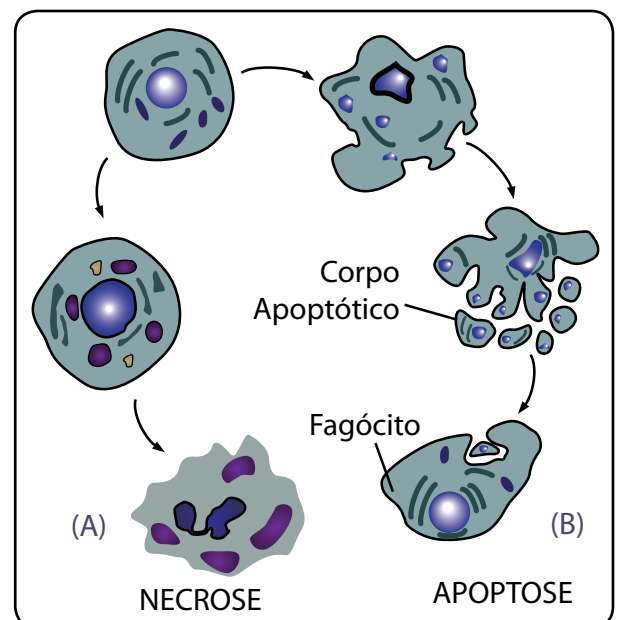
Sabemos que a maioria dos tecidos do nosso organismo sofre um freqüente processo de renovação celular, mantendo constante o número de células, graças ao equilíbrio existente entre a contínua proliferação e a morte das células. Neste caso, trata-se de uma forma fisiológica normal de morte celular, que, ao contrário da morte celular accidental, ou da simples falência descontrolada que ocorre na necrose, se caracteriza por um processo ativo de **alterações morfológicas e fisiológicas**, conhecido como apoptose.

A apoptose foi inicialmente definida por critérios morfológicos, dentre os quais encontra-se a condensação da cromatina no núcleo, a destruição do citoesqueleto, a degradação do envelope nuclear e a fragmentação do DNA nuclear (Figura 9.1). O mais importante é que a superfície celular é alterada, provocando a imediata fagocitose da célula, tanto pelas células vizinhas como pelos macrófagos.

Uma característica marcante desse processo é que a apoptose é “silenciosa”. Não há, como na necrose, a “desordem” da inflamação. Em geral, as células apoptóticas são reconhecidas por macrófagos, um tipo celular originado dos monócitos (glóbulos brancos) encontrados em todos os tecidos do organismo.

Fisiologicamente, a apoptose é um dos participantes ativos da **homeostase** no controle do equilíbrio entre a taxa de proliferação e degeneração com a morte das células, ajudando na manutenção do tamanho dos tecidos e órgãos. Portanto, consiste em um tipo de morte programada, desejável e necessária, que participa na formação dos órgãos e que persiste em alguns sistemas adultos, como a **pele** e o **sistema imunológico**.

Figura 9.1 - A apoptose mata células de forma rápida e limpa. O esquema mostra células que morreram por necrose (A) ou por apoptose (B). (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 626).



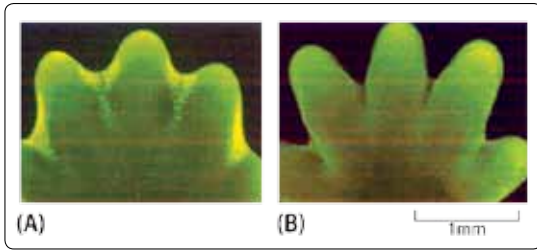


Figura 9.2 - Apoptose nas patas de um camundongo em desenvolvimento “esculpe” os dedos. (A) A pata, nesse embrião de camundongo, foi tratada com um corante que marca especificamente células que sofreram apoptose. As células em apoptose aparecem como pontos verdes claros entre os dedos em desenvolvimento. (B) Essa morte de células interdigitais elimina o tecido entre os dedos em desenvolvimento, como visto na pata mostrada um dia mais tarde. Aqui, poucas (ou nenhuma) células em apoptose podem ser visualizadas. (A partir de W. Wood et al., *Development* 127: 5245-5252, 2000. The Company of Biologists / ALBERTS et al., p. 625).

Como exemplo, nas mamas os hormônios circulantes estimulam as células a proliferar, diferenciar-se e produzir leite; o término da amamentação desencadeia a morte por apoptose das células secretoras de leite, como resultado de acúmulo de TGF β 3, fator transformador de crescimento beta-3, quando o leite deixa de ser drenado para fora.

A perda deste equilíbrio, isto é, dos mecanismos que levam à morte celular apoptótica, pode promover o aparecimento de lesões proliferativas e degenerativas, como infarto do miocárdio, doença de Alzheimer, câncer, doenças neurodegenerativas, infecções e intoxicação, além de patologias cardiovasculares e renais.

Os modernos conhecimentos da biologia celular têm revelado a cada dia que a morte celular programada e seus indutores e inibidores podem ser a chave para a compreensão de muitas patologias.

A apoptose é um tipo de morte celular altamente regulada, que possui importante papel durante o processo de diferenciação, crescimento e desenvolvimento dos tecidos adultos normais e patológicos, na organogênese, na renovação de células **epiteliais**

e **hematopoiéticas**, na involução cíclica dos órgãos reprodutivos da **mulher**, na atrofia induzida pela remoção de fatores de crescimento e, ainda, na regressão de tumores.

Então, podemos perguntar: qual é o papel e as consequências da morte celular no desenvolvimento normal dos seres vivos? Para que a diferenciação leve à morfogênese de órgãos normais, é necessário que, ao lado da proliferação e diferenciações celulares, exista também a eliminação das células que não são mais necessárias para os organismos.

Podemos citar, como exemplo do processo de apoptose, o feto, que possui os dedos inicialmente fundidos, como uma espécie de nadadeira; as células localizadas entre os dedos morrem e são eliminadas (Figura 9.2). Outros exemplos são a remoção da cauda dos girinos (Figura 9.3) e, também, o auxílio no controle do número de células nervosas necessárias para o número de células-alvo, no caso células musculares, que necessitam de inervação para que possam desempenhar as suas funções.

Existem muitos fatores que podem induzir as células ao processo apoptótico, como fatores de crescimento, neurotransmissores,

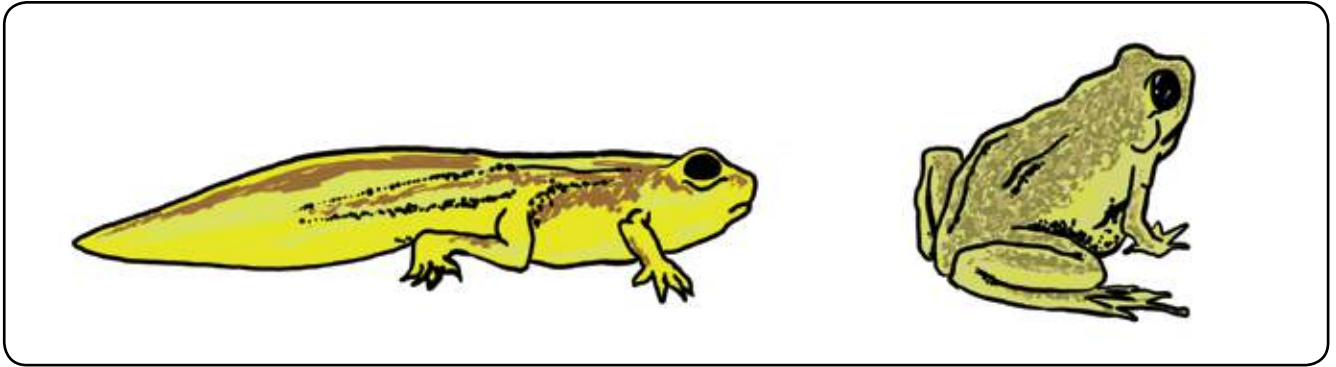


Figura 9.3 - Apoptose auxilia a eliminar a cauda durante a metamorfose de um girino em um sapo. À medida que um girino se transforma em um sapo, as células na cauda do girino são induzidas a sofrer apoptose. Todas as alterações que ocorrem durante a metamorfose, incluindo a indução da apoptose na cauda, são estimuladas por um aumento no hormônio tireoidiano no sangue. (Ilustração baseada em ALBERTS et al., p. 626).

metais pesados, agentes mutagênicos, radiações *UV*, drogas, choque térmico e infecções virais. Há também agentes que inibem a apoptose, como hormônios esteróides, íon zinco, fatores da matriz celular e aminoácidos.

A mitocôndria, além de ser a responsável pela produção de energia, age como um eixo central de decisões em muitos tipos de respostas apoptóticas. Fatores indutores de apoptose citados anteriormente levam à expressão da proteína **Bax**, que está localizada na crista mitocondrial, a se ligar a uma proteína anti-apoptótica, que é a **Bcl-2**, resultando na liberação da **Apaf-1**. A combinação de **Bax**, **Bcl-2**, Ca^{++} e ROS provoca a formação de poros na membrana da mitocôndria, facilitando a entrada de grande quantidade de água, que resultará no rompimento da membrana mitocondrial e, conseqüentemente, na liberação de um fator letal, que é o **citocromo c**.

Uma vez liberado no citosol, o **citocromo c** liga-se à **Apaf-1** (ativador de protease apoptótica 1), ativando-a, e na presença de ATP, irá clivar a **pró-caspase 9**. A **caspase 9** ativada pode ativar, assim, novas caspases, como a **caspase 3**, que irá até o núcleo das células para ativar as chamadas **endonucleases**, que atuaram na clivagem da molécula de DNA, localizada no núcleo das células. O desencadeamento dessa cascata leva ao fenômeno da apoptose, isto é, o desmonte da célula. Então, conclui-se que a apoptose depende de ATP. E, assim, se as mitocôndrias apresentam perdas e falham em produzir inicialmente o ATP durante a apoptose, a caspase 9 não será ativada e então as células irão morrer através de outro processo, a chamada necrose.

Bax: Proteína promotora do processo de apoptose.

Bcl-2: Família de proteínas que inibem a apoptose quando ligadas à Apaf-1.

ROS: Espécie reativa de oxigênio.

Caspase 9: Família de enzimas proteolíticas do citosol, contendo cisteína, que podem ser ativadas para desencadear a apoptose.

A permeabilidade da membrana mitocondrial externa é controlada por membros da família Bcl-2. Os membros anti-apoptóticos, como Bcl-2 ou Bcl-x, frequentemente ancorados a membranas, inibem a liberação de fatores apoptóticos mitocondriais. Ao contrário, os membros pró-apoptóticos, como Bax e bcl-x_s, desencadeiam estas liberações.

A dimerização do fator anti-apoptótico Bcl-2 com o fator pró-apoptótico Bax é um critério de interação. As células continuam a sobreviver se a proteína Bcl-2 predominar sobre Bax. Ao contrário, uma alta concentração de Bax, comparada com Bcl-2, aumenta a suscetibilidade da célula para apoptose.

A **p53**, um fator de transcrição da molécula de DNA, inicialmente identificado como um supressor de tumor, é também um importante fator regulatório de morte celular. Isto tem sido mostrado como um fator transcricional do gene *Bax*. A ação da p53 pode levar a um aumento nas taxas de Bax na dimerização da Bax/Bcl-2 e, assim, contribuir para o início da apoptose.

A morte celular programada pode ser identificada de várias formas, baseando-se apenas nos aspectos morfológicos ou pela marcação de algumas proteínas-chave no fenômeno. Aspectos morfológicos, como a cromatina altamente condensada e localizada radialmente no núcleo de células apoptóticas, são facilmente detectados em microscopia eletrônica de transmissão. Outra característica inclui o aumento da densidade do citoplasma, a presença de **blebs** na membrana celular, alteração na forma do núcleo e da célula.

A marcação de proteínas-chave no processo de apoptose constitui uma ferramenta interessante na identificação de células nesse processo, tanto no tecido como em cultivo. A marcação das caspases e da proteína Bax define o estado bioquímico da célula no processo. A ativação das caspases 8 e 9 determina o início do processo em cadeia de ativação das caspases. Já a marcação da ativação da caspase 3, caspase efetora, determina o final da cadeia, caracterizando um processo já irreversível da morte celular. A expressão da proteína Bax, proteína pró-apoptótica, sinaliza para um aumento da suscetibilidade da célula para apoptose.

Gene supressor de tumor que se encontra mutado em aproximadamente metade dos cânceres humanos. Proteína envolvida no bloqueio da progressão do ciclo celular após o dano no DNA.

Alterações da membrana plasmática na forma de "bolhas".

Os testes de genotoxicidade, como o Teste Cometa, possibilitam também observar fenômenos apoptóticos adiantados, onde a quebra do DNA é facilmente identificada e quantificada. A base do processo de morte celular programada é a quebra do DNA pela ativação das endonucleases, o que caracteriza a irreversibilidade do processo, favorecendo um diagnóstico mais preciso do evento. Alguns autores têm utilizado este teste para estudar os efeitos genotóxicos em linfócitos de um grupo ocupacional exposto ao chumbo. A morte celular por necrose é um processo que envolve alterações na integridade da membrana celular, influxo de íons e etc. Ocorre após estímulos lesivos à célula, como a falta de oxigênio e a nutrição inadequada. Como exemplo, temos a isquemia, que é um processo que ocorre durante o infarto ou no derrame cerebral. A isquemia pode ser prevenida através de drogas que protegem a mitocôndria. Essas drogas atuam promovendo a abertura do canal mitocondrial de K^+ sensível a ATP e/ou prevenindo a transição de permeabilidade mitocondrial, que resulta em disfunção mitocondrial. Ocorre também a lise celular, resultando no extravasamento do material para o meio extracelular, ativando as células do sistema imunológico e tendo como resposta um processo inflamatório.

Muitos estudos serão necessários para o entendimento das vias sinalizadoras envolvidas no processo de apoptose. Com a descoberta de novos genes relacionados à morte celular e dos produtos que eles codificam, elucidar-se-ão, cada vez mais, os mecanismos moleculares e genéticos deste processo. Isto terá grande importância em várias áreas do conhecimento, como na farmacologia e também na medicina. Estes estudos serão muito importantes, principalmente na aplicação prática das descobertas às doenças relacionadas à perda do equilíbrio homeostático das células de um tecido, tais como músculo cardíaco, câncer e doenças neuro-degenerativas.

Tabela 4 – Características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que distinguem a necrose da apoptose.

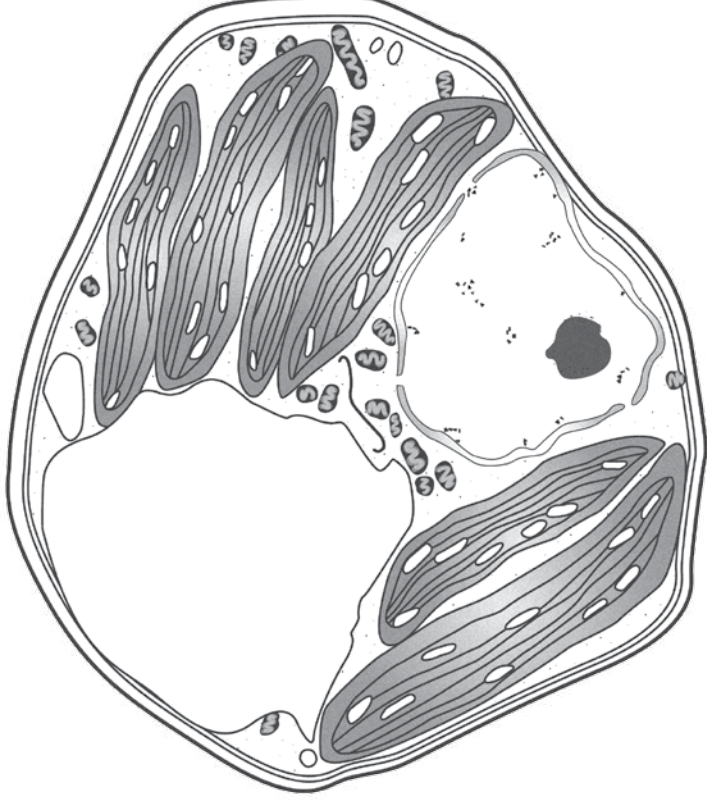
Características	Necrose	Apoptose
Morfológicas	• Aumento do volume celular. • Perda da integridade da membrana plasmática. • Lise total da célula. • Desintegração das organelas. • Liberação dos conteúdos celulares que causam uma resposta inflamatória indesejável.	• Clivagem do DNA nuclear por endonucleases. • Inicia com a condensação nuclear e citoplasmática. • Não há perda da integridade da Membrana. • Agregação e marginalização da cromatina. • Aumenta o tamanho do núcleo até tornar-se picnótico. • As células fragmentam-se em pedaços menores (formam corpos apoptóticos). • A formação de “blebs” relacionados com mudanças do citoesqueleto. • Aumento da permeabilidade mitocondrial. • Dilatação do Golgi, retículo endoplasmático e mitocôndrias. • O citoesqueleto é destruído. • A superfície é alterada, provocando a fagocitose pelas células vizinhas e macrófagos.
Bioquímicas	• Perda da regulação da homeostasia iônica. • Não requer energia. • Clivagem aleatória do DNA.	• Envolvendo ativação enzimática. • Dependente de ATP. • Clivagem não aleatória do DNA. • Liberação de vários fatores mitocondriais. • Ativação da cascata de caspases. • Alteração na assimetria da membrana citoplasmática.
Fisiológicas	• Afeta grupos de células. • Iniciada por estímulos não fisiológicos. • Fagocitose por macrófagos. • Com resposta inflamatória.	• Afeta células individuais. • Induzida por estímulos não fisiológicos. • As células são fagocitadas por macrófagos. • Sem resposta inflamatória.

Tabela 4 – Características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que distinguem a necrose da apoptose.

Resumo

Apoptose é um processo essencial para a manutenção do desenvolvimento dos organismos vivos e também para a eliminação de células danificadas. Esse processo envolve a ativação de um programa genético para a destruição da célula. Durante a apoptose, a célula sofre alterações morfológicas características. Tais alterações incluem, por exemplo, a diminuição do volume celular, a perda de aderência com a matriz extracelular, a condensação da cromatina e a fragmentação do DNA. Outras alterações ocorrem nesse processo, como o aumento da permeabilidade mitocondrial e a formação dos corpos apoptóticos. É um tipo de morte celular que ocorre durante várias situações fisiológicas e patológicas, constituindo um mecanismo de renovação de células e tecidos lesados. A célula recebe sinais internos como um dano no DNA, ou sinais externos que induzem a apoptose, como radiações uv, metais pesados e outros, para se autodestruir. A morte por apoptose não provoca inflamação, isto é, se caracteriza como uma morte limpa, sem prejudicar as células vizinhas. Já na necrose, a morte celular geralmente ocorre por falta de oxigênio, por microrganismos patogênicos ou por substâncias tóxicas, provocando nas células e nas organelas um aumento do volume. Esse aumento do volume provoca o rompimento das células e o seu conteúdo será lançado para o meio extracelular, promovendo uma resposta inflamatória nos tecidos vizinhos. De fato, os mecanismos fisiológicos de morte celular são essenciais como estratégias defensivas para remover células com mutações ou infectadas, como resposta a fenômenos causados por agentes tóxicos ou, ainda, para o desenvolvimento embrionário normal de muitos organismos vivos.

CAPÍTULO 10



Célula Vegetal

Neste capítulo, estudaremos as organelas envolvidas nas células vegetais. Estas incluem a parede celular, o vacúolo e o cloroplasto. Iremos caracterizar cada estrutura celular em nível ultra-estrutural e funcional.

10.1 Introdução

As células vegetais se assemelham às animais em muitos aspectos de sua morfologia, como a estrutura das membranas e de várias organelas. Também são semelhantes em vários mecanismos moleculares básicos, como a replicação do DNA e sua transcrição em RNA, a síntese protéica e a transformação de energia via mitocôndrias. Diferem, porém, em algumas características morfofisiológicas importantes. Juntamente com a presença de uma parede celular rígida e o desenvolvimento de um grande vacúolo utilizado para vários fins, os cloroplastos são componentes característicos das células vegetais (Figura 10.1).

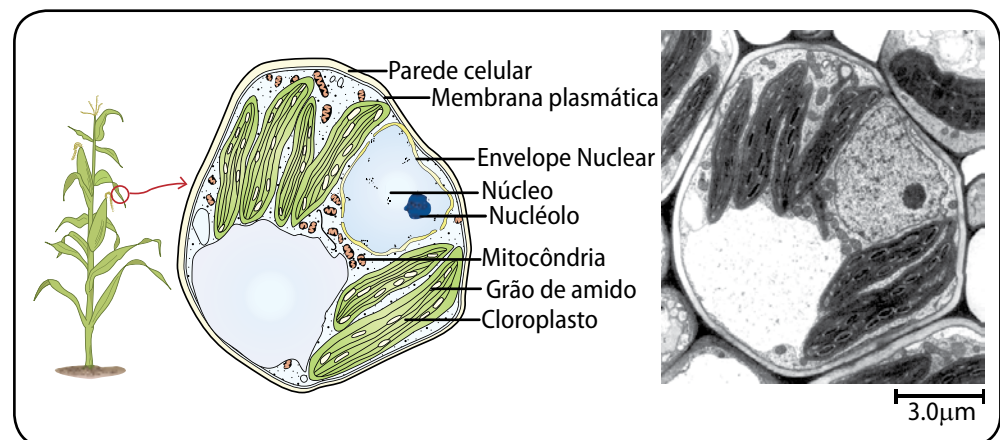


Figura 10.1- Desenho esquemático e microscopia eletrônica de uma célula vegetal de milho. (Ilustração baseado em Raven et al., p .45).

10.2 Parede Celular

A parede celular de plantas é uma matriz extracelular elaborada que envolve cada célula em um vegetal. As paredes das células vegetais são normalmente espessas, fortes e mais rígidas do que a matriz extracelular produzida pelas células animais. É uma matriz extracelular secretada como uma camada delgada nas células meristemáticas, tornando-se muito espessa e elaborada em células maduras. É um envoltório que envolve a célula, conferindo sustentação e imobilidade celular, agindo como um “exoesqueleto” da planta; participando da aderência, da aglutinação celular, da interação entre as células vizinhas e influi no crescimento, nutrição, reprodução e defesa; determina o formato celular e a forma da própria planta e também evita que a célula arrebente quando mergulhada em um meio hipotônico. As paredes celulares protegem a célula contra danos de atrito mecânico e patógenos. Geralmente é permeável à troca de íons entre o exterior e o interior da célula. As paredes celulares têm ainda importância econômica, constituindo como fonte de alimento, de combustível, de madeira, de papel, de fibras e outros produtos, como colas e aditivos alimentares.

10.2.1 Composição química

As paredes celulares vegetais contêm um elemento fibroso embebido e uma matriz não-fibrosa, semelhante a um gel. A celulose fornece o componente fibroso, e a hemicelulose, pectina e proteínas fornecem a matriz. A porcentagem desses vários materiais nas paredes celulares varia consideravelmente de célula para célula e de espécie para espécie.

A **Celulose** é o polissacarídeo mais abundante nos vegetais. A celulose é um polímero linear de glicose, contendo geralmente mais de 10.000 monômeros de glicose. Os resíduos de glicose são agrupados por ligações β (1 $\rightarrow$ 4), ou seja, ligados covalentemente pelo oxigênio entre o carbono número 1 de uma glicose e o carbono número 4 da próxima glicose (Figura 10.2).

A matriz da parede celular é composta de três tipos de macromoléculas (Figura 10.3).

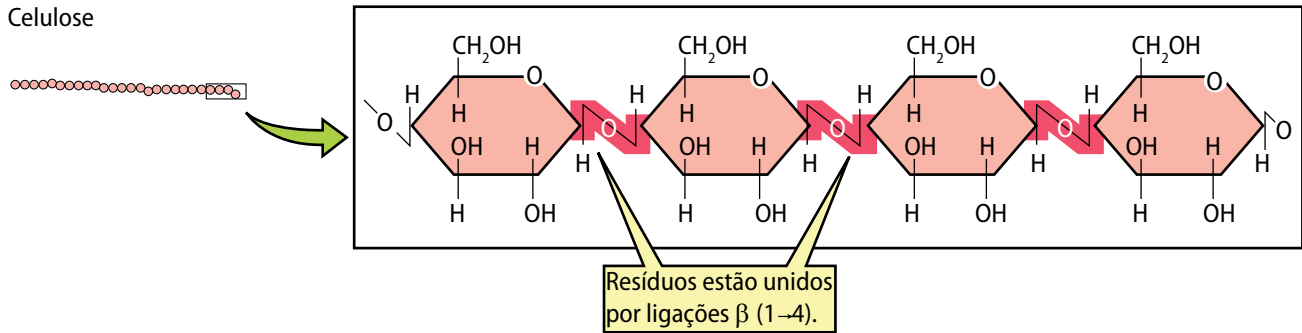


Figura 10.2 - Estrutura do polissacarídeo - O polissacarídeo é uma macromolécula constituída de centenas ou milhares de açúcares simples. A celulose é um composto inteiramente de resíduos de glicose que estão unidos por uma ligação β (1-4). (Ilustração baseado em COOPER, p.68)

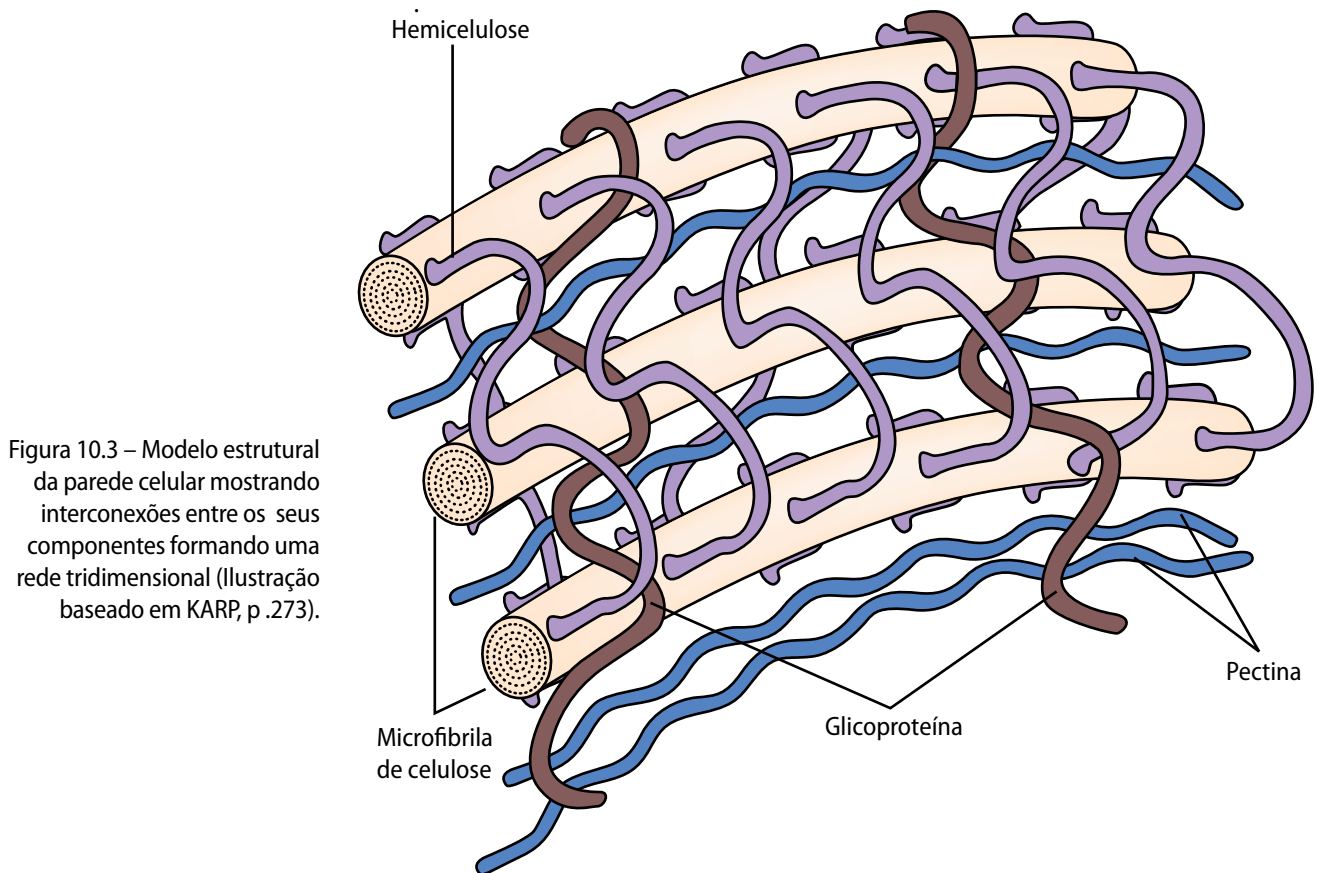


Figura 10.3 – Modelo estrutural da parede celular mostrando interconexões entre os seus componentes formando uma rede tridimensional (Ilustração baseado em KARP, p.273).

1. **Hemicelulose** - é um grupo heterogêneo de polissacarídeos ramificados que se ligam à superfície de cada microfibrilas de celulose, por pontes de hidrogênio, fazendo ligações cruzadas entre elas e formando uma complexa rede estrutural. Na maioria das plantas, o principal polímero formador da hemicelulose

lose é o xiloglicanas (Figura 10.4). Esse polissacarídeo possui uma cadeia principal formada por glicoses unidas por ligações β (1 $\rightarrow$ 4), regularmente ramificada com unidades de D-xilose.

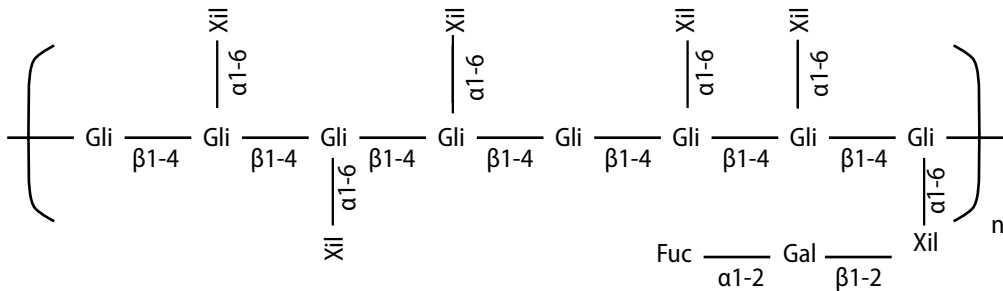


Figura 10.4 – Representação de uma molécula de xiloglicano. Gli= glicose; Xil= xilose; Gal= galactose; Fuc= fucose. (Ilustração baseado em CARVALHO & RECCO PIMENTEL, p .297).

2. **Pectina** - é um grupo de polissacarídeos ramificados, carregados negativamente contendo um grande número de resíduos de ácido D-galacturônico unidos por ligações α (1 $\rightarrow$ 4). Devido à sua carga negativa, a pectina liga-se a íons carregados positivamente (como Ca^{2+}) e atrai moléculas de água formando um extenso gel hidratado.
3. **Proteínas** - uma classe de proteínas estruturais é a extensina, rica no aminoácido hidroxiprolina. A síntese da extensina é induzida quando as células são danificadas por fermento, infecção ou congelamento, e assim, de alguma forma, ela pode ajudar a proteger ou a reparar as células. Esta proteína acredita-se que reforce a parede e pode formar uma barreira para microrganismos invasores. As proteínas estruturais interagem covalentemente com os polissacarídeos e têm importante papel na organização da arquitetura e resistência das paredes.
4. **Liginina** - é outro componente da parede celular não-polissacarídico. Um polímero fenólico complexo, que consiste em alcoóis fenilpropanóides e seus ácidos correspondentes, de estrutura pouco conhecida. A lignina é uma das substâncias mais resistentes dos vegetais, utilizada toda vez que o vegetal requer uma sustentação eficiente. Essa substância aparece nos tecidos vegetais como o esclerênquima e o xilema e ocorre somente durante a formação da parede secundária. O xilema é que constitui a madeira, cuja resistência se deve à lignina.

10.2.2 Outros componentes da parede celular

Cutina e suberina - são lipídios (gorduras) impermeáveis à água, utilizados todas as vezes em que a planta necessita proteger as paredes contra a perda de água. A cutina forma a película que reveste as folhas e os frutos, e a suberina aparece no tecido chamado súber (cortiça). Estão localizadas nas paredes externas da maioria das células epidérmicas, ou células de revestimento.

Além desses compostos da parede celular, existe ainda a presença de minerais, como a sílica, comum nas paredes das gramíneas, e o carbonato de cálcio. Em algumas paredes se detecta tanino, outra classe de polímeros fenólicos, que evitam o ataque de vírus e repelem os insetos.

10.2.3 Tipos de Parede Celular

As paredes celulares inicialmente surgem, como uma fina **placa celular** que se forma entre a membrana plasmática de células-filhas recém-formadas após a divisão celular e é rica em pectinas. A parede celular vai amadurecendo pela incorporação de materiais adicionados que são montados no interior da célula e secretados ao espaço extracelular. As paredes celulares em crescimento são chamadas: **Parede Celular Primária** e **Parede Celular Secundária**.

- **Parede Celular Primária** - é a primeira a se desenvolver nas células jovens em crescimento. Essas são finas e flexíveis, permitindo que a célula se expanda em tamanho. A parede primária é composta de 30% celulose, 15-25% hemicelulose, 30%

pectinas, 10% proteínas e água. As fibras de celulose parecem ser arranjadas de forma aleatória (Figura 10.5).

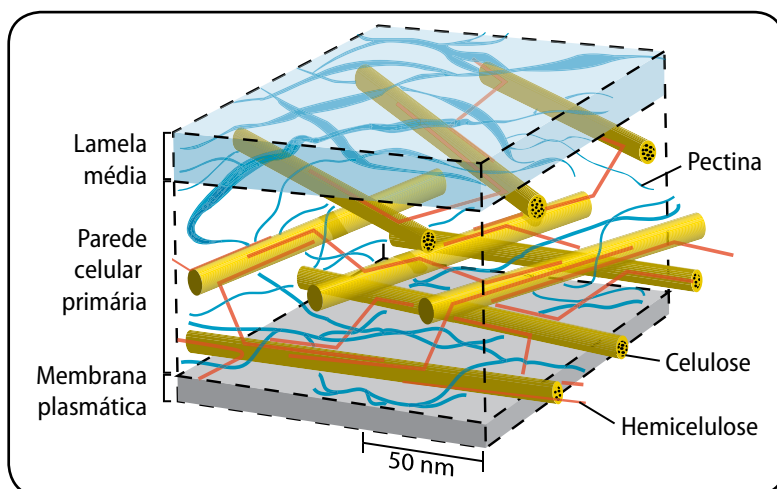


Figura 10.5 – Modelo em escala, de uma porção da parede celular primária mostrando as duas redes principais de polissacarídeos (Ilustração baseado em ALBERTS et al., p.1002).

A transformação da parede celular primária para a secundária ocorre quando a parede aumenta em conteúdo de celulose e, na maioria dos casos incorpora lignina.

- **Parede Celular Secundária** - forma-se entre a membrana plasmática e a parede celular primária, quando o crescimento da célula cessa. A parede secundária é composta de 50% - 80% celulose, 5 - 30% hemicelulose e 15 - 35% lignina. Pouca ou nenhuma pectina, proteínas e água. A lignina nas paredes de células condutoras de água do xilema fornece o suporte necessário para mover a água pela planta. É também o principal componente da madeira e, por conseguinte, a molécula orgânica mais abundante da terra. A estrutura microfibrilar de celulose é geralmente organizada e disposta em camadas, denominadas camadas S1, S2 e S3 (Figura 10.6). Geralmente, em cada camada, as microfibrilas têm um arranjo paralelo entre si, mas podem ser dispostas de três formas, em relação ao eixo da célula: fibrosa, helicoidal e anular.

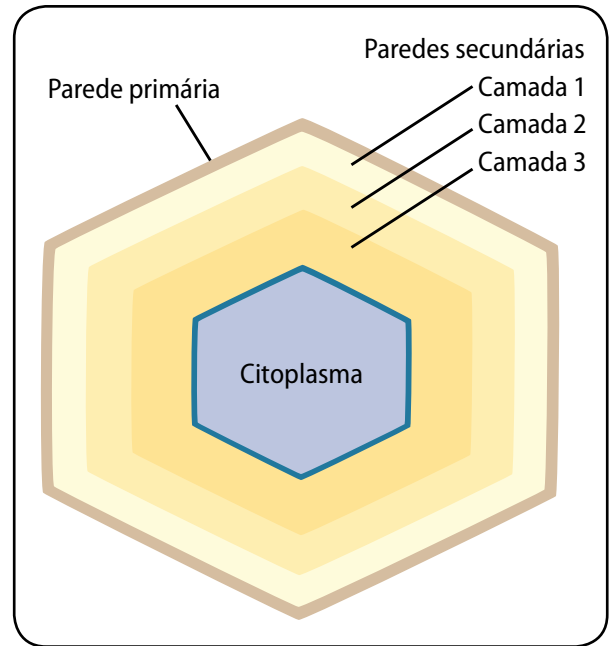


Figura 10.6 - Parede celulares primária e secundária. As paredes secundárias estão dispostas entre as paredes primárias e as membranas plasmáticas. As paredes secundárias frequentemente são compostas por três camadas, que diferem na orientação de suas microfibrilas de celulose. (Ilustração baseada em COOPER, p.527).

10.2.4 Origem e crescimento da Parede Celular

A parede das células vegetais se origina durante a citocinese, ao final da divisão celular. A formação da parede começa no centro da célula e cresce em direção às paredes laterais existentes. A nova parede celular começa a se formar no citoplasma, logo após a migração dos cromossomos - filhos para os pólos opostos da célula no início da telófase. O processo de formação é conduzido por uma estrutura denominada **fragmoplasto**. O fragmoplasto é formado pelos vestígios dos microtúbulos polares na região equatorial do fuso mitótico velho (Figura 10.7). Logo após a formação do fragmoplasto, pequenas vesículas secretoras derivados do complexo de Golgi são transportadas ao longo dos microtúbulos até a região equatorial do fragmoplasto (Figura 10.8). Então, essas ve-

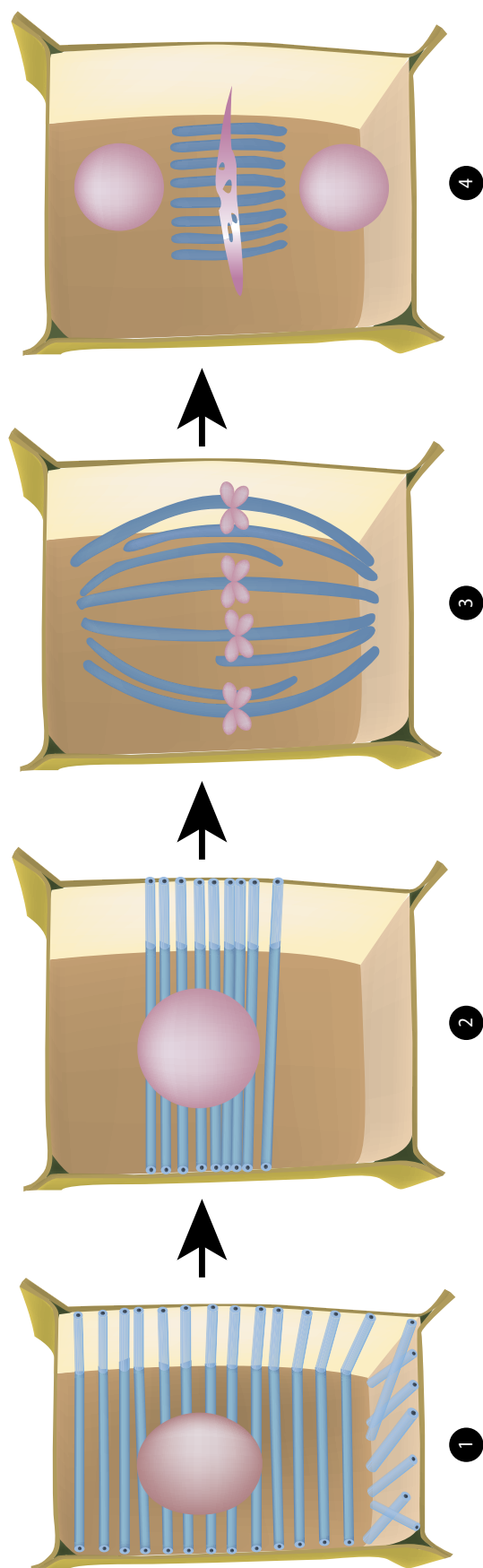


Figura 10.7 - Quatro arranjos principais de microtúbulos presentes durante o ciclo celular de uma célula vegetal. (1) - Na interfase os microtúbulos estão amplamente distribuídos pelo córtex. (2) - Próximo à mitose os microtúbulos desaparecem da maior parte do córtex, deixando apenas uma única banda transversal. (3) - No avanço da mitose a banda de microtúbulos é perdida e os microtúbulos reaparecem na forma do fuso mitótico. (4) - Após a separação dos cromossomos, o fuso mitótico desaparece e é substituído por um feixe de microtúbulos chamado de fragmoplasto. (Ilustração baseado em KARP, p.351).

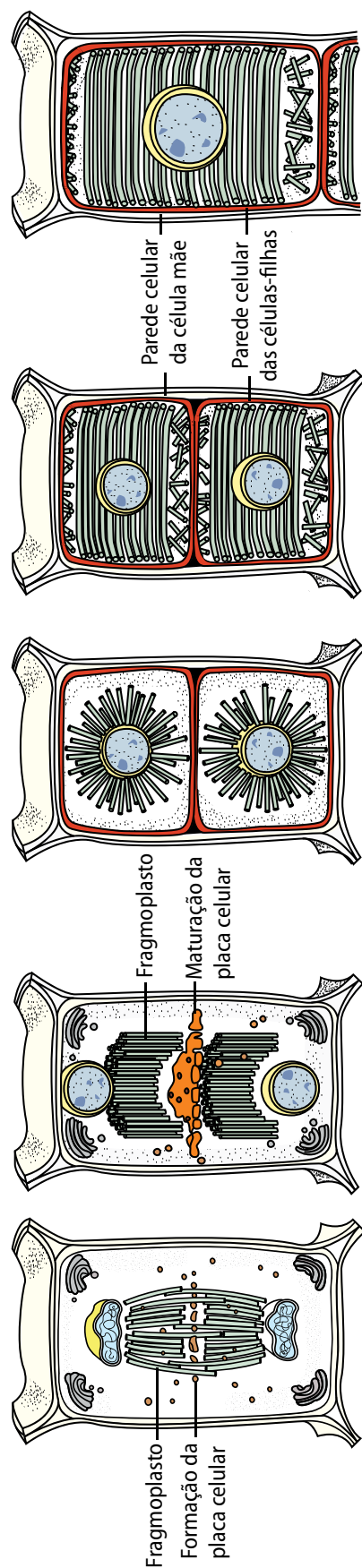


Figura 10.8 - Esquema da formação da parede celular durante a citocinese, mostrando vesículas produzidas pelo complexo de Golgi, se acumulam na região equatorial da célula. A fusão dessas vesículas produz a placa celular. A placa celular por sua vez, se expande para fora e se funde com o plasma da membrana parental. (Ilustração baseado em RAVEN et al, p.165).

sículas fusionam-se para formar uma grande membrana fechada, com estrutura em forma de disco, e seu conteúdo reúne-se para formar a matriz de uma nova parede celular chamada de **placa celular**. A placa celular se expande para fora por uma posterior fusão de vesículas até alcançar a membrana plasmática e a parede celular já existente, dividindo a célula em duas. A manutenção das estruturas citoplasmáticas entre as vesículas que se fundem dá origem aos **plasmodesmos**, pequenos canais entre os citoplasmas das células-filhas. Uma vez completada a partição entre as duas células-filhas, já se detecta celulose em ambos os lados da placa celular, constituindo a parede celular primária.

Todos os precursores necessários para sintetizar os polissacarídeos da parede celular vêm do citoplasma. Componentes da matriz, incluindo hemicelulose e pectinas, são sintetizados no complexo de Golgi e transportados à superfície da célula em vesículas secretoras. A celulose, contudo, é sintetizado na superfície celular por uma enzima de multissubunidades chamada celulose sintetase. As subunidades da enzima são organizadas em um anel de seis membros, ou roseta, que está embebida dentro da membrana plasmática (Figura 10.9). As microfibrilas de celulose recém-sintetizadas são depositadas nas regiões de alongação das células em uma orientação que parece desempenhar um papel importante na

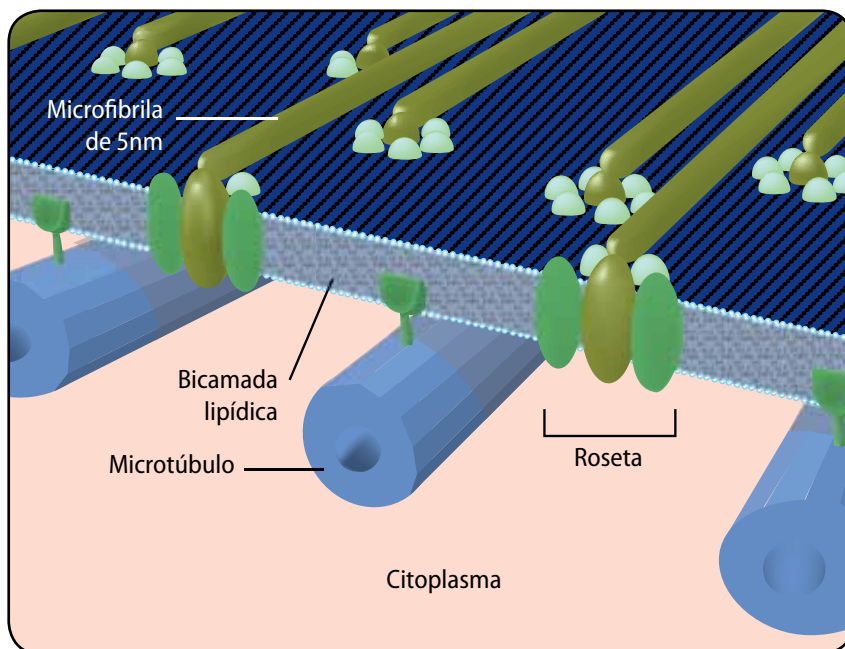


Figura 10.9 – Um modelo de deposição da fibrila da celulose. (Ilustração baseado em KARP, p.275).

determinação das expansões celulares subsequentes. Nas paredes celulares em processo de alongamento as microfibrilas de celulose aparecem arranjadas em paralelo com os microtúbulos corticais revestindo a membrana plasmática (Figura 10.10). Os microtúbulos corticais definem então a direção do crescimento da parede celular, que por sua vez determina a direção da expansão e finalmente a forma de uma planta inteira.

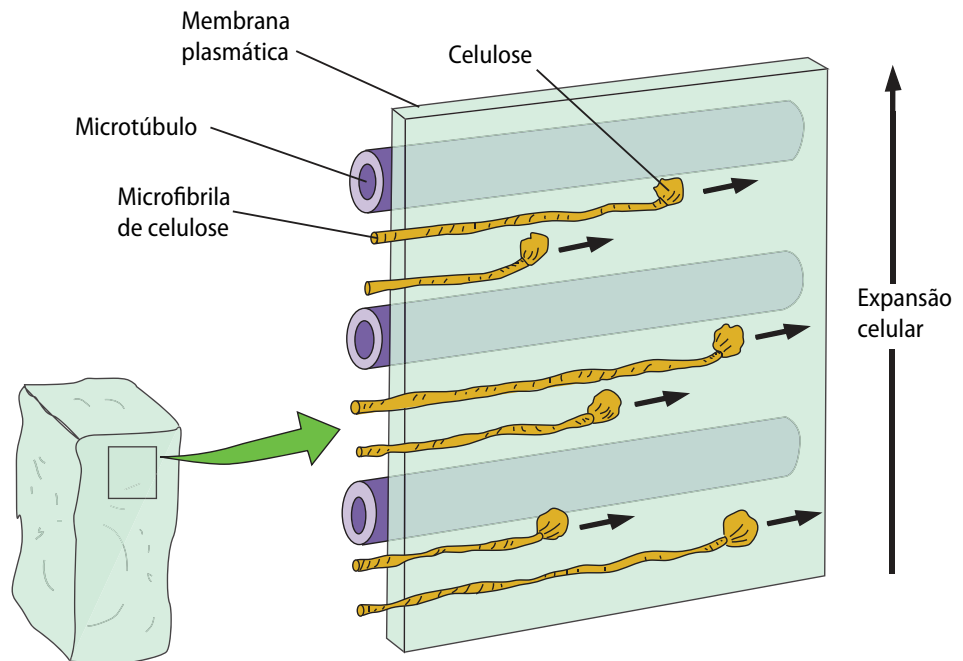


Figura 10.10 - Síntese de celulose durante a elongação celular. (Ilustração baseado em COOPER, p.528).

Nas plantas, a interação entre células vivas é feita, principalmente, por sinais químicos e por comunicações entre células denominadas **plasmodesmos**. Os plasmodesmos são canais citoplasmáticos que passam através da parede celular de células adjacentes (Figura 10.11). Os plasmodesmos são alinhados com a membrana plasmática, a qual é contínua de uma célula vegetal à outra, e os dois citoplasmas são conectados através de um canal cilíndrico com diâmetro de 20 a 60 nm. Em direção a região central do canal, existe uma estrutura cilíndrica mais estreita, o desmotúbulo, derivado do retículo endoplasmático liso das duas células. Esses canais são gerados, pelo menos em sua maioria, no momento da formação da parede celular primária. Os plasmodesmos, dificultam o trânsito intercelular de moléculas de peso molecular acima de 800 daltons.

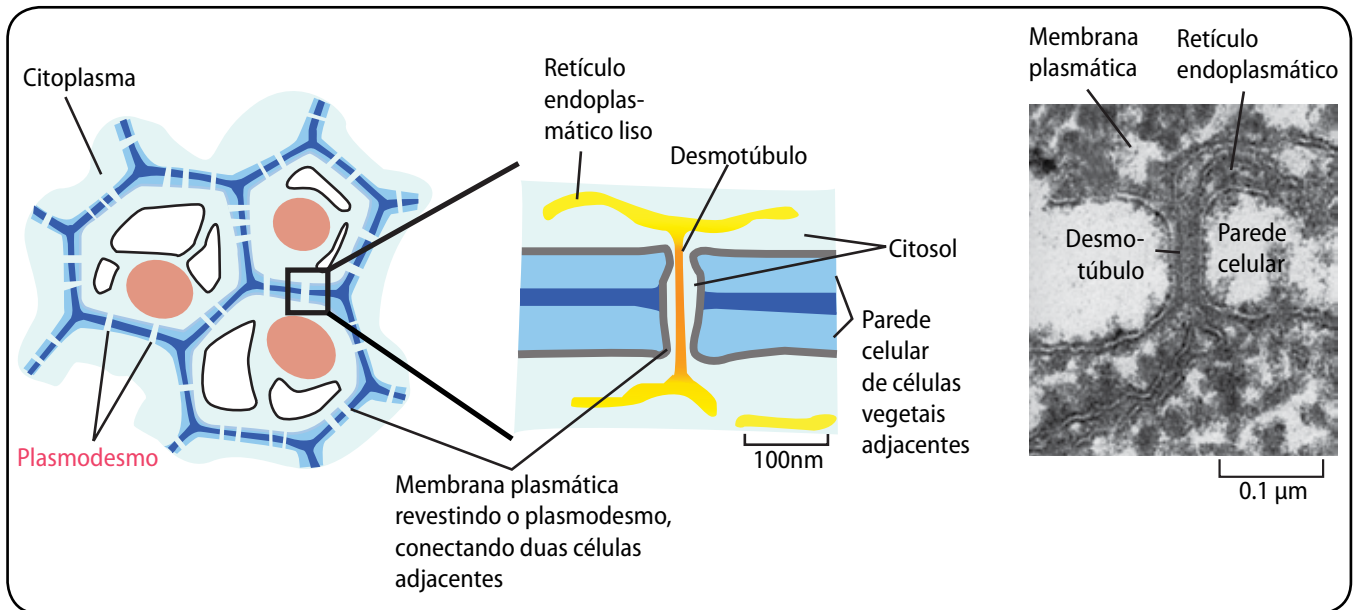


Figura 10.11 – Estrutura dos plasmodesmos. (A) Os canais citoplasmáticos dos plasmodesmos furam a parede da célula vegetal e conectam todas as células da planta. (B) Cada plasmodesmo é revestido com uma membrana plasmática comum às duas células ligadas. Normalmente, o plasmodesmo também contém uma estrutura tubular e fina, o desmotúbulo, derivado do retículo endoplasmático liso. (C) Microscopia eletrônica do plasmodesmo de uma hepática. (Ilustração baseado em ALBERTS et al. p. 962).

10.3 Vacúolo

Os vacúolos são estruturas celulares que começam como pequenas e numerosas vesículas, nas células vegetais imaturas, chamados de provacúolos. À medida que a célula vai crescendo, os vacúolos vão se fundindo formando um único vacúolo que ocupa a maior parte do volume celular, chegando a ocupar 95% da célula (Figura 10.12). Os provacúolos são formados pela rede trans do Golgi. O vacúolo é delimitado por uma membrana denominada de tonoplasto e é cheio de líquido, muitas vezes chamado de suco celular.

Um vacúolo pode atuar como uma organela de armazenamento de nutrientes ou para dejetos, como compartimento de degradação, como um modo econômico de

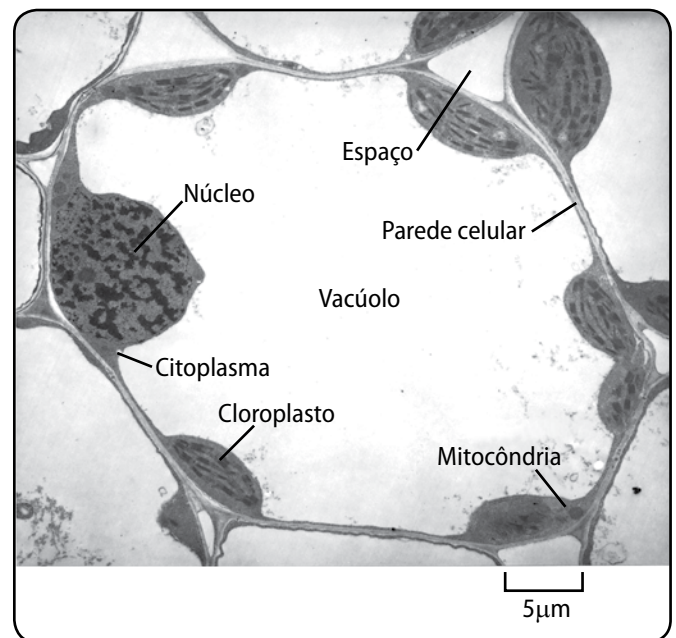


Figura 10.12 – Microscopia eletrônica de transmissão de uma célula de folha de trigo, na qual uma borda fina de citoplasma contendo cloroplasto circunda um grande vacúolo. (ALBERTS et al., p. 686).

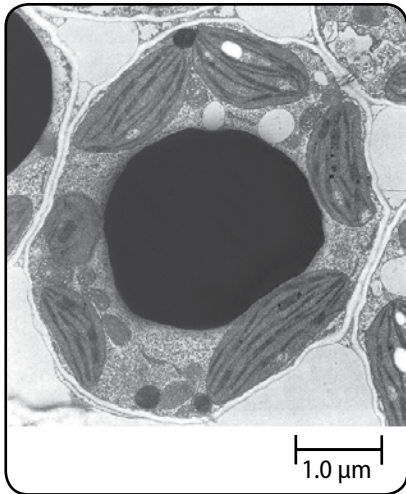


Figura 10.13 – Microscopia eletrônica de transmissão de *Mimosa pudica* mostrando o tanino elétron denso literalmente no centro do vacúolo da célula. (Ilustração baseado em RAVEN et al., p. 36).

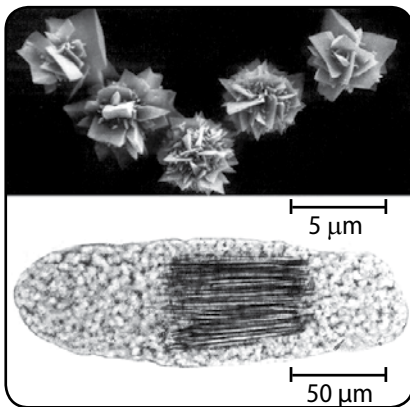


Figura 10.14 – Os vacúolos podem conter diferentes formas de cristais de oxalato de cálcio. (A) Drusa em célula da epiderme de *Cercis canadensis* e (B) Rafide na célula da folha de *Sansevieria* (Ilustração baseado em RAVEN et al., p. 54).

aumentar o tamanho da célula, e como um controlador da pressão do turgor (a pressão osmótica que pressiona a parede celular de dentro para fora e evita que a célula sofra colapso). Os vacúolos servem também de depósito de substâncias específicas como proteínas e látex e de várias substâncias venenosas ou de gosto desagradável, que protegem a planta contra seus predadores, como insetos e animais herbívoros. Os vacúolos também são compartimentos importantes para isolar do restante do citoplasma produtos tóxicos resultantes do metabolismo, como alguns alcalóides (ex. nicotina) e derivados fenólicos (ex. tanino) (Figura 10.13). Algumas vezes, a concentração de um determinado soluto no interior dos vacúolos é tão elevada que favorecem a formação de cristais de oxalato de cálcio como drusas e rafides (Figura 10.14). Pigmentos de antocianina são armazenados em vacúolos coloridos das pétalas de muitas flores para atrair os insetos polinizadores. Os vacúolos apresentam também função de digestão celular, exercido pelos lisossomos na célula animal, degradando macromoléculas e reciclagem de constituintes celulares.

10.4 Plastídeos

Os plastídeos são grupos de organelas dinâmicas capazes de desempenhar inúmeras funções. A atividade predominante é a fotossíntese realizada pelos plastídeos verdes, os cloroplastos. Junto com os vacúolos e a parede celular os plastídeos são componentes característicos das células vegetais. Os cloroplastos ocorrem nas algas e nas partes aéreas das plantas. Nas plantas são organelas grandes com 5 a 10 μm de comprimento, que, como nas mitocôndrias, são delimitados por uma dupla membrana, denominada envelope (Figura 10.15).

Além das membranas externas e interna, possuem um terceiro sistema de membranas internas, chamado membrana do **tilacoide**.

Os cloroplastos fazem as suas interconversões energéticas por mecanismos quimiosmóticos de maneira muito semelhante àque-

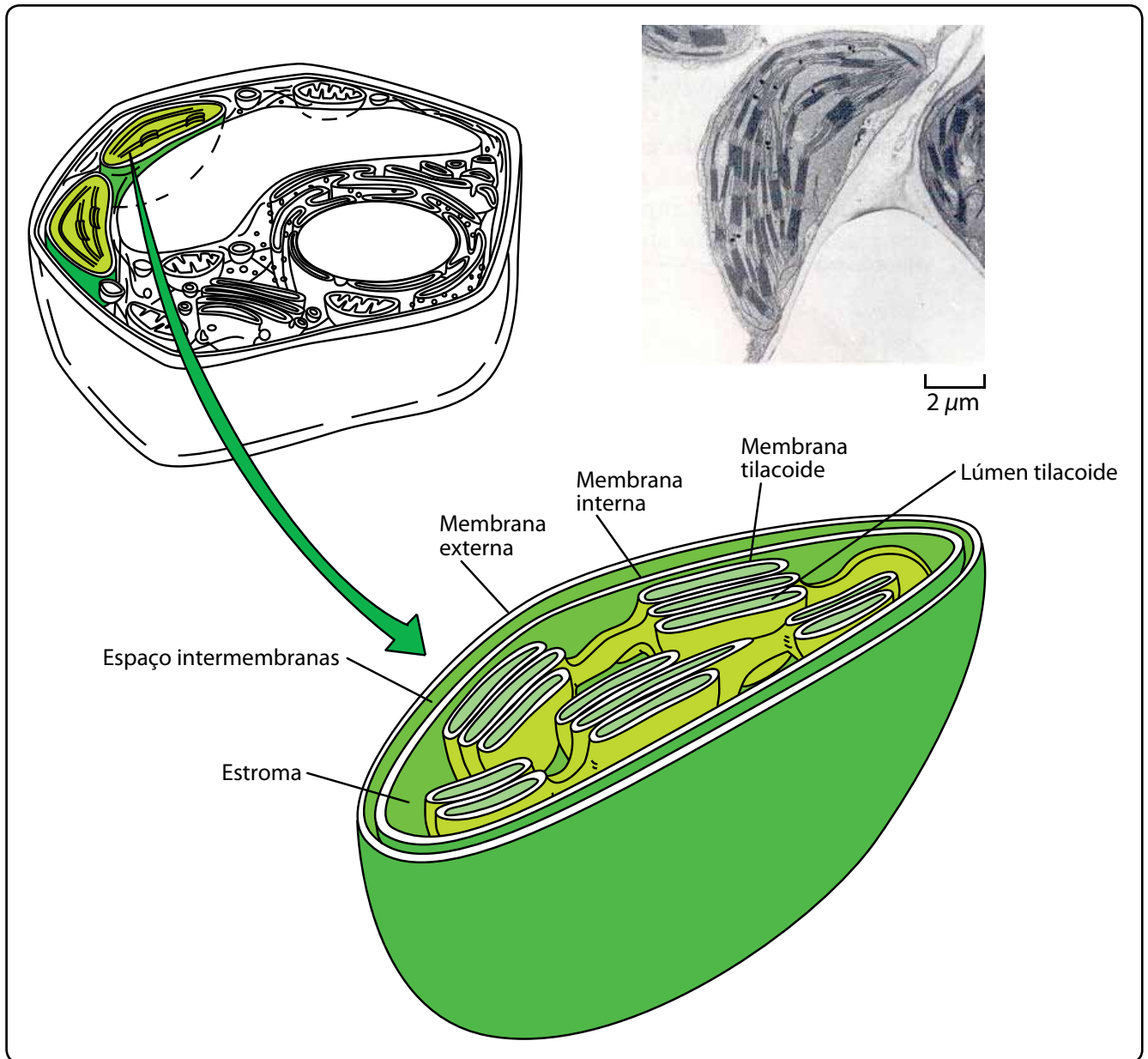


Figura 10.15 - Estrutura de um cloroplasto. Os cloroplastos possuem, além das membranas interna e externa do envelope, um terceiro sistema de membranas internas: a membrana tilacoide, que divide o cloroplasto em três compartimentos internos. (Ilustração baseada em COOPER, p. 427).

la utilizada pelas mitocôndrias, e são organizadas pelos mesmos princípios. Eles possuem uma membrana externa altamente permeável e uma membrana interna muito menos permeável, na qual proteínas **carreadoras** especiais estão embebidas e um espaço intermembranas muito estreito.

A membrana interna circunda um grande espaço chamado de **estroma**, o qual é análogo à matriz mitocondrial e contém várias

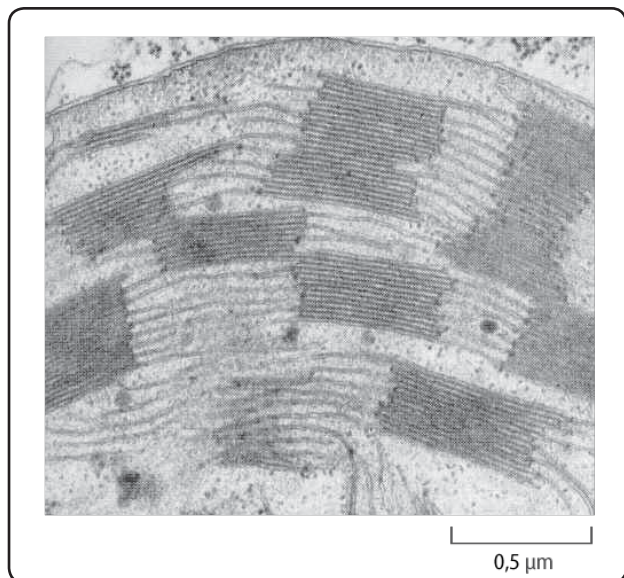


Figura 10.16 - Micrografia eletrônica de um cloroplasto. (DARNELL, p. 703).

enzimas, ribossomos, RNA e DNA. Há, entretanto, uma importante diferença entre a organização das mitocôndrias e a dos cloroplastos. A membrana interna dos cloroplastos não é dobrada em cristas e não contém uma cadeia transportadora de elétrons. Ao invés disso, a cadeia transportadora de elétrons, bem como o sistema fotossintetizante que absorve luz e sintetiza ATP estão todos contidos em uma terceira membrana distinta, que forma um conjunto de sacos achatados semelhantes a discos, os **tilacóides**. Acredita-se que o lúmen de cada tilacóide está conectado com o lúmen de outros tilacóides, definindo consequentemente, um terceiro compartimento interno chamado de espaço do tilacóide, o qual é separado do estroma pela membrana do tilacóide (Figura 10.16).

A primeira etapa da fotossíntese é a absorção de luz por uma molécula **fotoreceptora**. O principal fotoreceptor nos cloroplastos das plantas verdes é a **clorofila a**. Os quatro átomos de nitrogênio dos pirróis são coordenados a um átomo de magnésio. Outra característica que atinge a clorofila é a presença de fitol, um álcool altamente hidrófobo com 20 carbonos, esterificado com uma cadeia lateral ácida.

A **clorofila b** difere da clorofila a por ter um grupamento formila no lugar de um metila em um de seus pirróis. Essas clorofilas são fotorreceptores muito eficazes, porque contêm redes de ligações simples e duplas alternadas. Tais compostos são chamados de **polienos**. Têm faixas de absorção muito fortes na região visível do espectro, onde também é máximo o fluxo solar que atinge a Terra. Os coeficientes molares de absorção nos picos das clorofilas a e b são os mais altos observados entre compostos orgânicos. Os espectros de absorção das clorofilas a e b são **diferentes**. Por outro lado, a luz é um fator limitante para as cianobactérias e as algas vermelhas. Elas contêm pigmentos acessórios de captação de luz que as capacitam a utilizar com eficiência a luz que não foi absorvida pelas clorofilas dos organismos fotossintéticos na água acima deles.

A luz que não é absorvida pela clorofila a – a 460nm – é capturada pela clorofila b, que tem uma absorção intensa nesse comprimento de onda.

Assim, esses dois tipos de clorofila complementam um ao outro na absorção da luz solar incidente. A região do espectro de 500 a 600nm é fracamente absorvida por essas clorofilas, mas isso não é problema para os vegetais verdes.

Acredita-se que a evolução das cianobactérias, a partir de bactérias fotossintetizantes primitivas, foi um pré-requisito para o desenvolvimento de formas de vida aeróbica. Em vegetais, os quais se desenvolveram mais tarde, a fotossíntese ocorre em uma organela intracelular especializada — o **cloroplasto**. Os cloroplastos fazem a fotossíntese durante as horas de luz diurna. Os produtos da fotossíntese são usados diretamente pelas células fotossintetizantes para a biossíntese e são também convertidos em um açúcar de baixo peso molecular (normalmente sacarose), que é exportado para suprir as necessidades metabólicas das outras várias células não fotossintetizantes do vegetal. Alternadamente, os produtos podem ser armazenados na forma de um polissacarídeo osmoticamente inerte (normalmente amido), que é mantido disponível como fonte de açúcar para uso futuro.

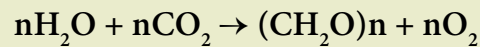
10.4.1 Origem dos cloroplastos

Evidências bioquímicas sugerem que os cloroplastos são descendentes de bactérias fotossintetizantes produtoras de oxigênio, que foram endocitadas e que viveram em simbiose com células eucarióticas primitivas. Acredita-se que as mitocôndrias sejam também descendentes de bactérias endocitadas. As muitas diferenças entre os cloroplastos e as mitocôndrias refletem os seus destinos ancestrais, bem como as suas subsequentes divergências evolutivas. Todavia, os mecanismos fundamentais envolvidos na síntese de ATP dirigida pela luz em cloroplastos e a síntese de ATP direcionada pela respiração nas mitocôndrias são muito semelhantes.

Todos os animais e a maioria dos microorganismos dependem da captação contínua de grandes quantidades de compostos orgânicos do ambiente. Estes compostos fornecem tanto os esqueletos de carbono para a biossíntese quanto a energia metabólica, que dirige todos os processos celulares. Acredita-se que os primeiros organismos da Terra primitiva tiveram acesso a uma abundância de compostos orgânicos produzidos por processos geoquímicos, mas que a maioria destes compostos originais foram utilizados há bilhões de anos. Desde aquele tempo, virtualmente todos os materiais orgânicos necessários para as células vivas foram produzidos por organismos fotossintetizantes, incluindo muitos tipos de bac-

térias fotossintetizantes. As mais avançadas bactérias fotossintetizantes são as cianobactérias, que possuem mínimas necessidades nutricionais. Elas utilizam elétrons da água e a energia da luz solar para converter o CO_2 atmosférico em compostos orgânicos. No curso da separação da água, eles liberam na atmosfera o oxigênio necessário para a **fosforilação oxidativa**.

Reação de separação da água:



Todos os plastídeos se desenvolvem a partir de proplastídeos, os quais são organelas relativamente pequenas presentes nas células imaturas dos meristemas vegetais. Os proplastídeos se desenvolvem de acordo com as necessidades de cada célula diferenciada, e o tipo que estará presente é determinado em grande parte pelo genoma nuclear (Figura 10.17).

Se uma folha é cultivada no escuro, os seus proplastídeos se alargam e se tornam etioplastídeos, os quais possuem um arran-

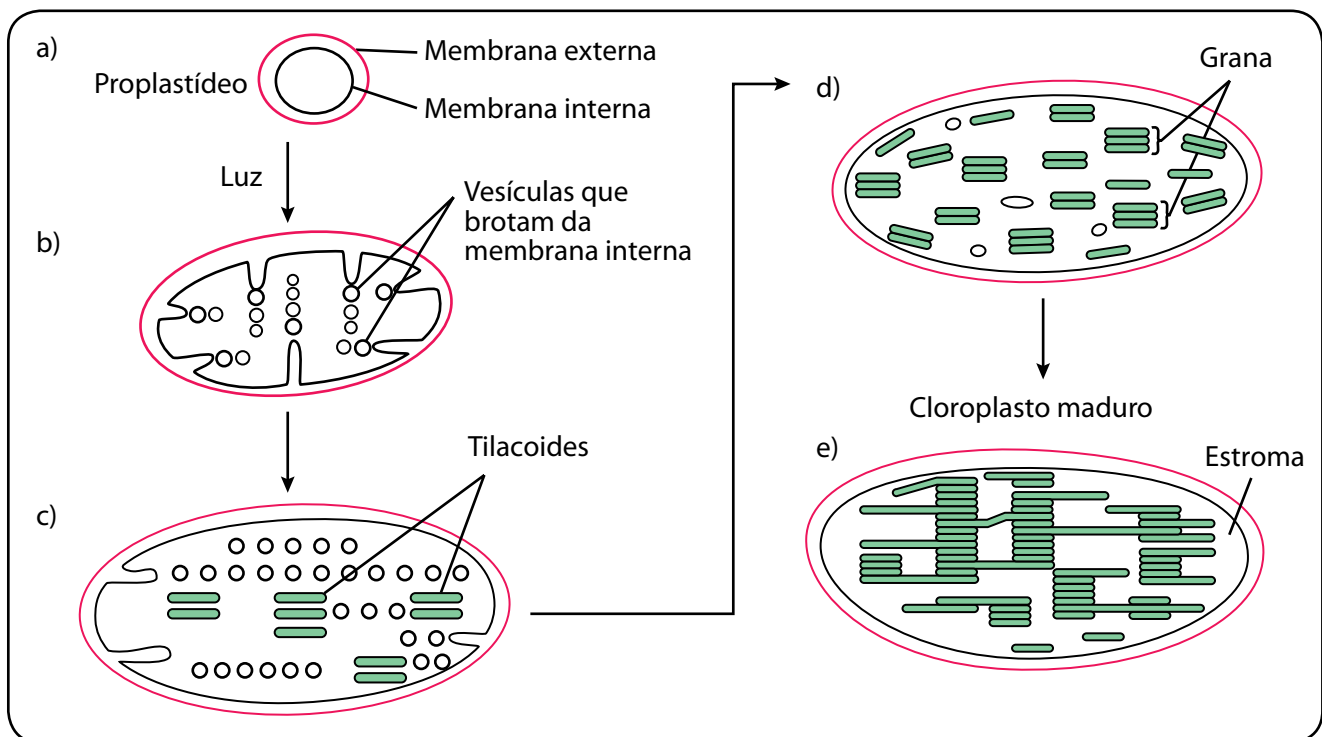
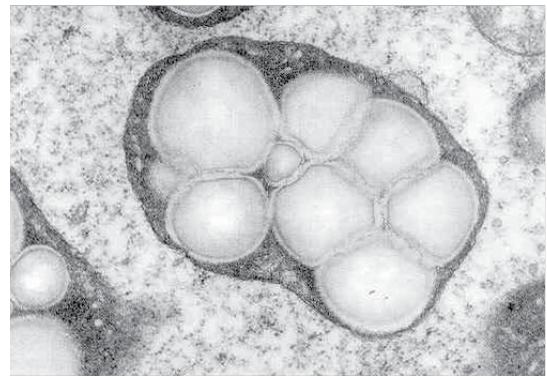


Figura 10.17 - Etapas de diferenciação de um proplastídeo em cloroplasto induzido pela luz. (Ilustração baseada em DARNELL, p. 704).

jo semicristalino de membranas internas que contém um precursor amarelo de clorofila em vez da clorofila. Quando a folha é exposta à luz, os etioplastos rapidamente se desenvolvem em cloroplastos, convertendo este precursor em clorofila e sintetizando uma nova membrana, pigmentos, enzimas fotossintetizantes e componentes da cadeia transportadora de elétrons (Figura 10.18).



(B)

0,5 μm

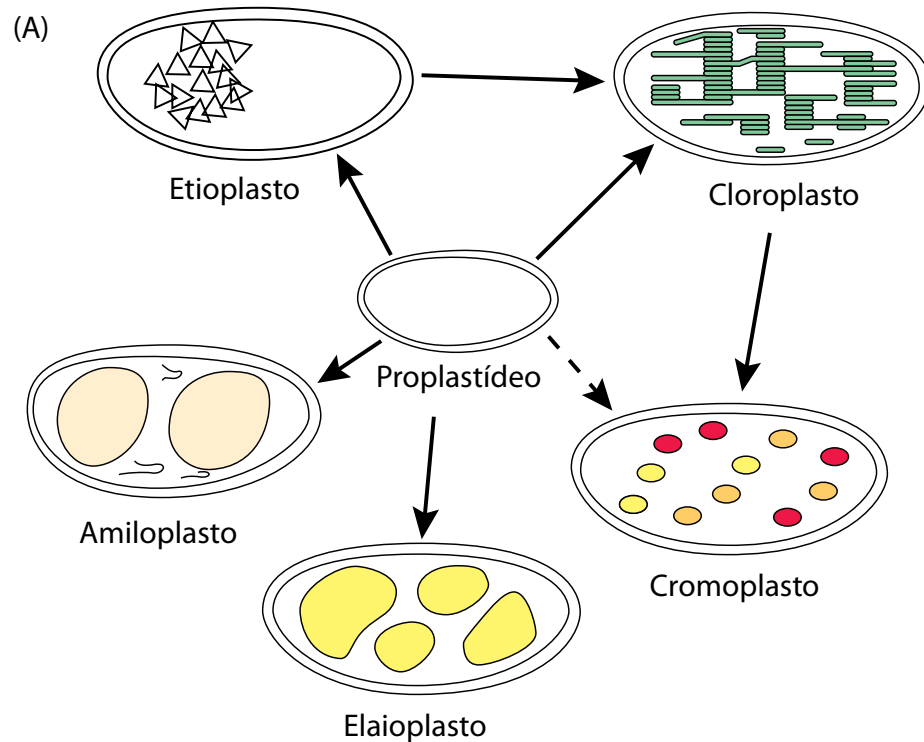


Figura 10.18 - (A) Diferenciação do proplastídeo em diferentes plastos a partir da localização na planta e exposição à luz. (B) Eletromicrografia de um amiloplasto de raiz de cebola. (Ilustração baseada em Darnel, p. 705).

Os leucoplastos são plastídeos que ocorrem em muitos tecidos epidermais e internos que não se tornam verdes e fotossintetizantes. Eles são pouco mais alargados do que os proplastídeos. Uma forma comum de leucoplasto é o amiloplasto, o qual acumula amido em tecidos de **reserva**.

Em algumas plantas, tal como batatas, os amiloplastos podem crescer tanto que chegam ao tamanho médio das células animais.

É importante entender que os plastídeos não são somente sítios para a fotossíntese e para o depósito de materiais de reserva. Os vegetais exploraram os seus plastídeos na compartimentalização celular do metabolismo intermediário. Os plastídeos produzem mais energia e força redutora (como ATP e NADPH) do que a planta pode utilizar em suas reações biossintéticas. As sínteses de purinas e pirimidinas, da maioria dos aminoácidos e de todos os ácidos graxos dos vegetais, ocorrem nos plastídeos, enquanto em células animais estes compostos são produzidos no citosol.

10.4.2 A fotossíntese

Os cloroplastos e as bactérias fotossintetizantes obtêm elétrons de alta energia por meio de fotossistemas capazes de capturar elétrons excitados, quando a luz solar é absorvida pelas moléculas de clorofila. Os fotossistemas são construídos por um complexo de proteínas e pigmentos precisamente ordenados, em que a fotossíntese ocorre (Figura 10.19).

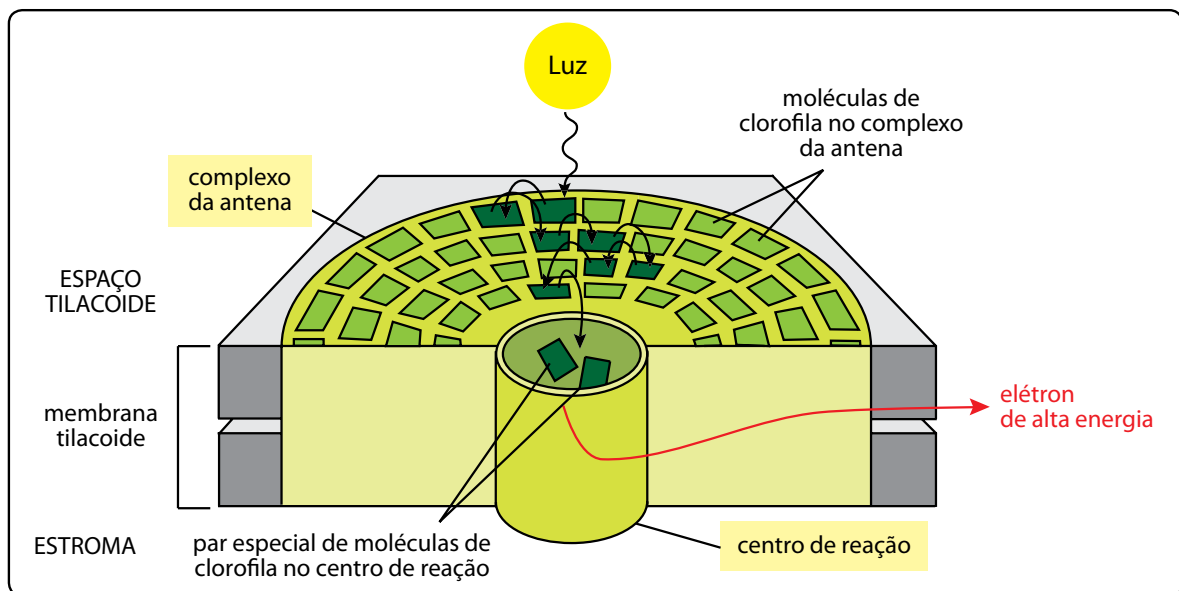


Figura 10.19 - O centro de reação e a antena de um fotossistema. A antena coleta elétrons que foram excitados pela luz e direciona as suas energias a um par especial de moléculas de clorofila no centro de reação. O centro de reação adquire um elétron de alta energia que pode ser rapidamente passada à cadeia transportadora de elétron na membrana tilacoide. (Ilustração baseada em Alberts et al., p. 445).

Durante a fotossíntese, a energia da luz solar é captada e utilizada para a síntese de glicose a partir de CO_2 e H_2O . A capacidade

de conversão da energia da luz solar em uma forma de energia química potencial utilizável torna a fotossíntese a fonte metabólica para todos os sistemas biológicos. A fotossíntese ocorre em dois estágios distintos. Nas reações em presença de luz, a energia da luz solar leva à síntese de ATP e de NADPH acoplada à formação de O_2 a partir da água (Figura 10.20).

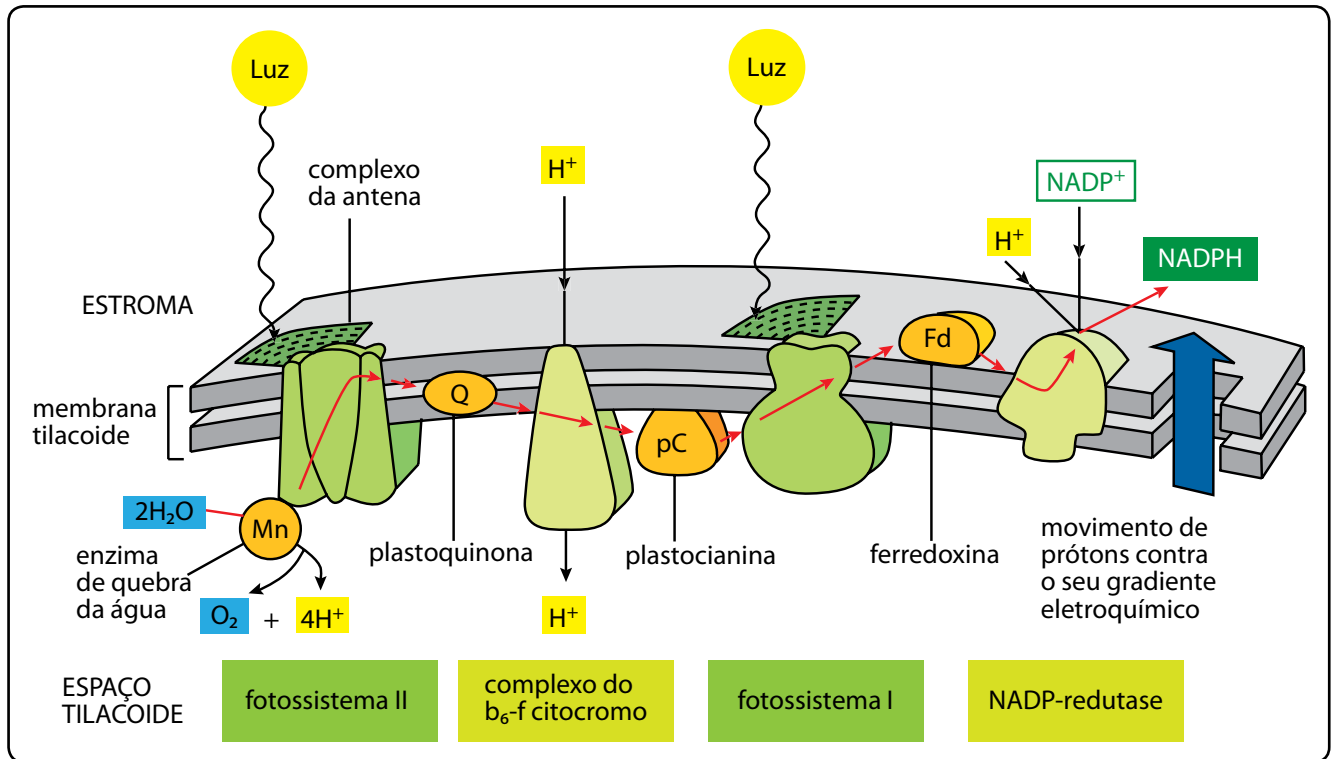


Figura 10.20 - O fluxo de elétrons durante a fotossíntese na membrana do tilacoide. Carreadores móveis de elétrons na cadeia são a plastoquinona (muito semelhante à ubiquitina das mitocôndrias), a plastocianina (uma pequena proteína que contém cobre) e a ferredoxina (uma pequena proteína que contém um centro de ferroenxofre). O complexo do citocromo $b_6 - f$ assemelha-se muito ao complexo de citocromo $b-c_1$ das mitocôndrias, além de ser um único sítio de bombeamento ativo de H^+ na cadeia transportadora de elétrons dos cloroplastos. O H^+ liberado pela oxidação da água e o H^+ capturado durante a formação de NADPH também contribuem para a geração do gradiente eletroquímico de prótons. O gradiente de prótons dirige uma ATPsintetase localizada na mesma membrana (não representado aqui). (Ilustração baseada em Alberts et al., p. 445).

Nas reações no escuro, reações que não necessitam de luz, o ATP e o NADH formados nas reações em presença de luz, atuam na síntese de glicose nas reações de fixação do carbono (Figura 10.21).

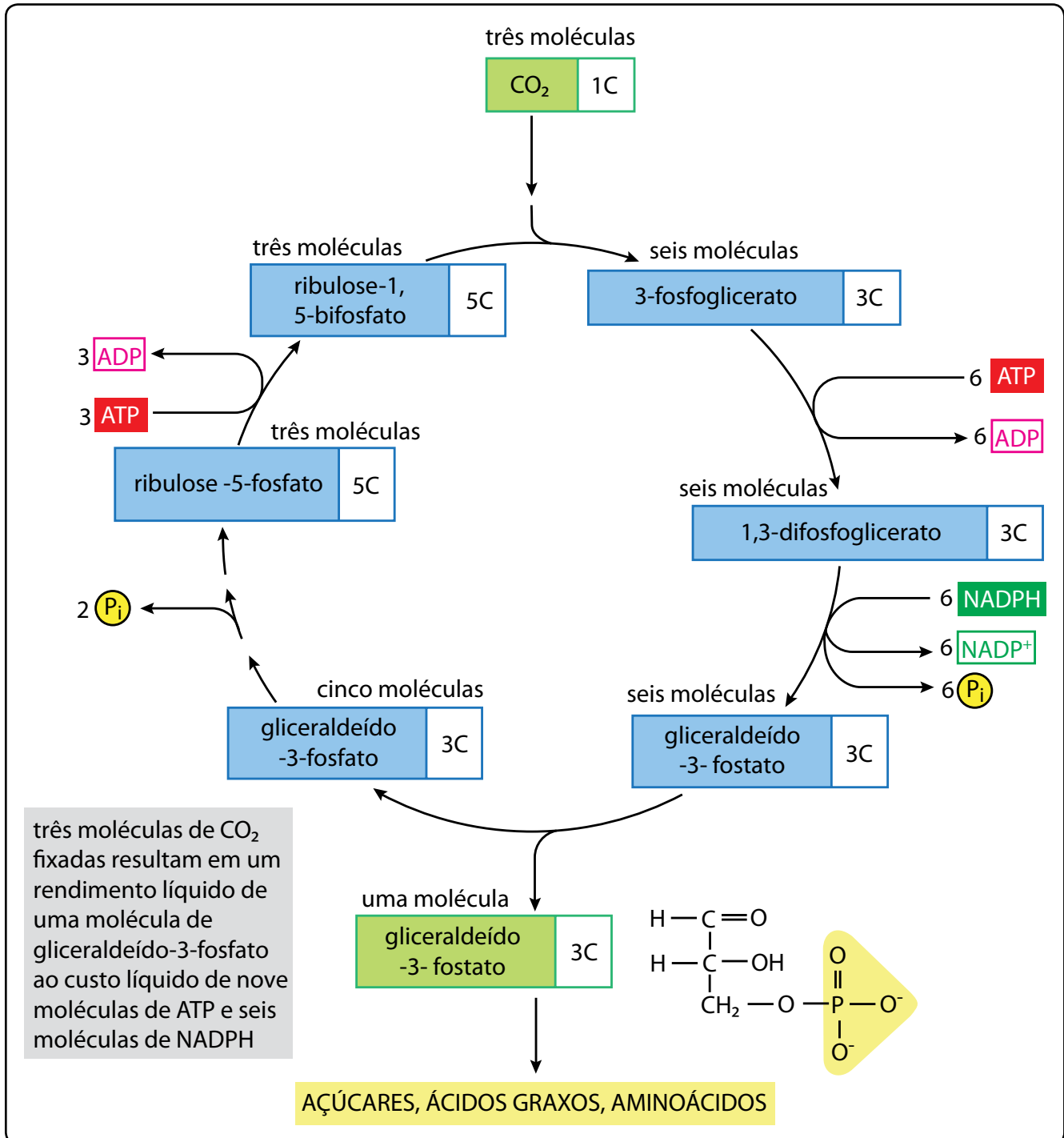


Figura 10.21 - Reações de fotossíntese em um cloroplasto. A água é oxidada, e o oxigênio é liberado nas reações fotossistêmicas de transferência de elétrons, enquanto o dióxido de carbono é assimilado (fixado) para produzir açúcares e uma variedade de outras moléculas orgânicas nas reações de fixação do carbono. (Ilustração baseada em Alberts et al., p. 442).

Nas células eucarióticas, todas as reações da fotossíntese ocorrem dentro do cloroplasto – as que necessitam de luz ocorrem na membrana dos tilacoides, e as que são realizadas no escuro ocorrem dentro do estroma (Figura 10.22).

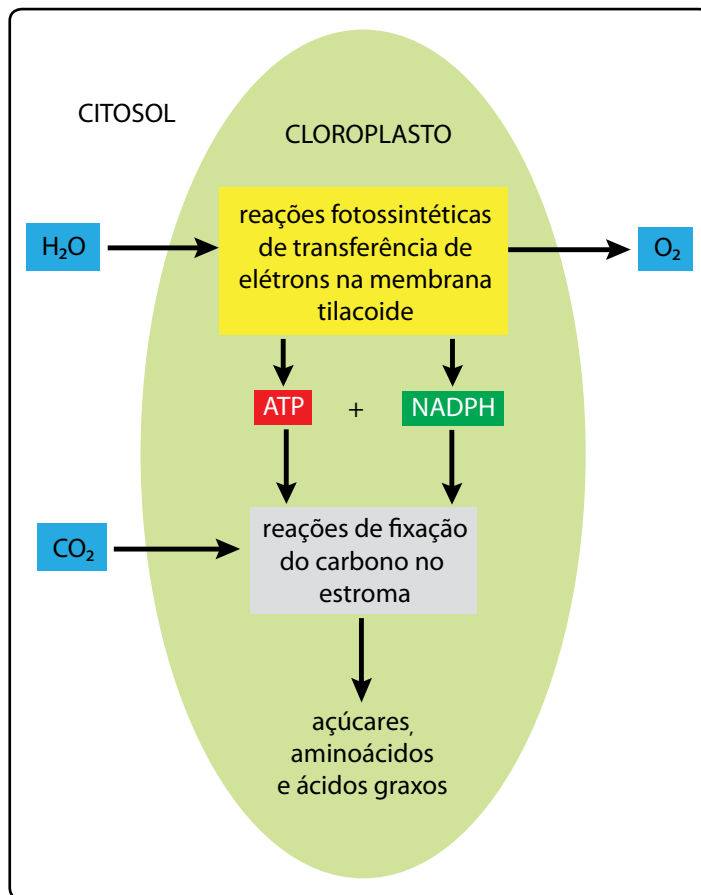


Figura 10.22 - O ciclo de fixação do carbono, o qual forma moléculas orgânicas a partir de CO_2 e H_2O . O número de átomos de carbono em cada tipo de molécula está indicado na caixa branca. Há muitos intermediários entre o gliceraldeído-3-fosfato e a ribulose-5-fosfato, mais eles foram aqui omitidos para maior clareza. A entrada de água no ciclo não está representada. (Ilustração baseada em Alberts et al., p. 447).

Resumo

As células vegetais se assemelham às animais em muitos aspectos de sua morfologia, porém diferem em algumas características morfofisiológicas importantes. A presença da parede celular, vacúolo, plastídios e a realização de fotossíntese são as principais características que fazem a célula vegetal ser diferente da célula animal. A parede celular de plantas é uma matriz extracelular elaborada, normalmente espessa, forte e rígida que envolve a célula. Essa parede confere a célula uma forma constante e proteção contra agressões mecânicas e contra a ruptura por desequilíbrio osmótico. A parede celular é composta por fibrilas de celulose e uma matriz não-fibrosa de hemicelulose, pectina e proteínas. Sua origem se dá durante a citocinese, pela fusão de vesículas originadas no complexo de Golgi e pela posterior deposição de camadas dessa parede. A primeira parede a se desenvolver é a parede celular primária e quando o crescimento da célula cessa surge a parede celular secundária. O citoplasma das células adjacentes é conectado por canais cilíndricos através da parede chamados de plasmodesmos que permitem a comunicação entre células. Além, da parede celular a célula vegetal possui também o vacúolo que é pequeno e numeroso quando a célula é jovem tornando-se grande e único à medida que a célula cresce. O vacúolo pode ocupar até 95% do volume total da célula e desempenhar importantes funções, como de manter a turgescência celular. O cloroplasto é outro componente característico das células vegetais que está envolvido especificamente ao metabolismo energético e à produção de ATP. Essa organela utiliza a energia capturada da energia solar para gerar ATP e, posteriormente, esse ATP será gasto na fotossíntese, produzindo carboidratos a partir de CO_2 e H_2O .

Referências Bibliográficas

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula**. 4th ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 1463p.
- ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos de Biologia Celular**. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2006. 757p.
- CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. **A célula 2007**. 2 ed. São Paulo: Manole, 2007. 380p.
- COOPER, G. M. **A célula: uma abordagem molecular**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed. 2001. 712p.
- DARNELL, J.; LODISH, H.; BASTIMORE, D. **Molecular Cell Biology**. 2nd ed. New York: Scientific American Books, 1990. 1105p.
- DE ROBERTIS, E.M.F.; HIB, J. **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 2001. 418p.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 2005. 332p.
- KARP, G. **Biologia Celular e Molecular**. 3 ed. São Paulo: Manole 2005. 786p.
- MAILLET, M. **Biologia Celular**. Petrópolis: Masson, 1982. 261p.
- MAUSETH, J.D. 1991. BOTANY. **An introduction to plant biology**. 2 ed. San Marino: Saunders Coolege Publishing, 1991. 794p.
- NOVAK, J. D. (2003) The Theory Underlying Concept Maps and How to Construct Them. Disponível em <<http://cmap.coginst.uwf.edu/info/printer.html>>.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 2001

Bibliografia Complementar

NAVES, M.; MORENO, F. Diferenciação Celular: importância na hepatocarcinogênese e papel modulador do β -caroteno²⁰⁴. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 2000.

PRATA, K. L. **Efeito da quimioterapia em altas doses sobre as células-tronco mesenquimais humanas**. 2006. 200f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, SP, 2006.

SCOTT, R. E. Differentiation, differentiation / gene therapy and cancer. **Pharmacol Ther**, v. 73, p. 51-65, 1997.

BELIZÁRIO, J. E. Próximo desafio: reverter o câncer. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 184, 2002.

<http://www.cellsalive.com>

<http://pt.wikipedia.org/wiki/celula>

<http://www.mundosites.net/biologia/biologiacelular.htm>

<http://www.universitario.com.br/celo/index2.html>

<http://seikienokawa.wordpress.com/>