

**FRANCIANE PEREIRA BRANT, LAYDE DYANA SIERAU, LEANDRO PETINARI,
RAFAEL MAGNO LEONHARDT E ROBERTA BARBIZAN PETINARI**

ISBN: 978-65-990231-7-0

BIOLOGIA CELULAR VOLTADA PARA O ENSINO DA MEDICINA

1º edição

**Minas Gerais
Edição da UFVJM**

2020

**ROBERTA BARBIZAN PETINARI
(COORDENADORA)**

BIOLOGIA CELULAR VOLTADA PARA O ENSINO DA MEDICINA

1º edição

**TEÓFILO OTONI
UFVJM
2020**

Ficha Catalográfica
Preparada pelo Serviço de Biblioteca/UFVJM
Bibliotecário responsável: Gilson Rodrigues Horta – CRB6 nº 3104

P487b Petinari, Roberta Barbizan.
2020 Biologia celular voltada para o ensino da medicina. / Roberta Barbizan Petinari (coord.). – Teófilo Otoni: UFVJM, 2020.
181 p. ; il.

ISBN: 978-65-990231-7-0

1. Biologia celular. 2. Aprendizado. 3. Ensino superior.
4. Medicina. I. Título.

CDD: 611.018

SUMÁRIO

<i>Apresentação</i>	09
<i>Capítulo 1 – Microscopia</i>	10
<i>Roberta Barbizan Petinari</i>	
Escala Métrica.....	11
Resolução	12
Microspório de luz.....	14
Preparação.....	18
Imunocitoquímica.....	20
Imunofluorescência	21
Interpretação.....	21
Como Observar estruturas menores que 0,2 µm?.....	23
Microscopia eletrônica.....	23
<i>Capítulo 2 – Biomembranas</i>	31
<i>Franciane Pereira Brant</i>	
Constituição e Estrutura da Membrana Plasmática.....	31
Composição dos lipídios da Membrana Plasmática.....	33
Composição das proteínas da Membrana Plasmática.....	34
Carboidratos (os açúcares).....	36
As Células se Reconhecem.....	38

Glicocálix (cobertura ou revestimento celular).....	38
A Assimétrica da Membrana Plasmática.....	40
Propriedades das Biomembranas.....	41
Fluidez das membranas:.....	41
Atividade Funcional.....	43
Receptores.....	43
Transporte através da Membrana.....	46
Permeabilidade à Água.....	46
Difusão Passiva.....	46
Transporte Ativo.....	47
Difusão Facilitada.....	47
Transporte Impulsionado por Gradientes Iônicos.....	49
Doenças Originadas por Alterações na Biomembrana.....	52
Fibrose Cística.....	52
Capítulo 3 – Junções Intercelulares.....	58
Franciane Pereira Brant e Roberta Barbizan Petinari	
Moléculas de Adesão.....	60
Junção de Oclusão.....	61
Junções Aderentes (Zônulas Aderentes).....	62
Os Desmossomos.....	62
Junções Comunicantes (Junções gap ou nexos).....	64
Hemidesmossomos.....	65

Adesão focal.....	65
Doenças hereditárias relacionadas a mutações em genes que codificam proteínas das junções celulares.....	65
Capítulo 4 – Matriz Extracelular.....	69
Layde Dyana Sierau e Roberta Barbizan Petinari	
Principais componentes da matriz extracelular.....	71
Colágeno:.....	71
Sistema elástico:.....	72
Proteoglicanos:.....	72
Cicatrização.....	73
Matriz extracelular e patologias.....	74
Capítulo 5 – Citoesqueleto.....	77
Layde Dyane Sierau	
Microfilamentos ou filamentos finos.....	79
Filamentos Intermediários.....	81
Microtúbulos.....	83
Movimentos Celulares e o Citoesqueleto.....	85
O Citoesqueleto na Prática Clínica.....	87
Capítulo 6 – Retículo Endoplasmático.....	90
Leandro Petinari	
Estrutura.....	91

Composição Química.....	92
Aspectos Funcionais.....	93
Síntese de Proteínas.....	94
Síntese de Lipídios.....	98
Destoxificação.....	101
Reservatório de Cálcio – contração muscular.....	102
Capítulo 7 – Complexo Golgiense.....	105
<i>Leandro Petinari e Roberta Barbizan Petinari</i>	
Estrutura:.....	107
Composição Química.....	109
Aspectos Funcionais.....	109
Transporte e endereçamento.....	112
A via biossintética secretora.....	112
As vesículas de transporte: As vesículas de transporte.....	115
Reconhecimento e fusão.....	117
Formação do Acrossomo.....	118
Formação de membranas celulares.....	118
Fosforilação.....	119
Capítulo 8 – Sistema Lisossômico/endossômico.....	121
<i>Leandro Petinari</i>	
Estrutura.....	122

Formação dos Lisossomos.....	124
Múltiplas vias levam o material aos lisossomos.....	126
Doenças relacionadas aos Lisossomos.....	129
Capítulo 9 – Mitocôndria	134
Leandro Petinari e Roberta Barbizan Petinari	
Morfologia.....	134
Funções.....	137
Peroxissomo.....	141
Capítulo 10 – Núcleo.....	145
Franciane Pereira Brant e Roberta Barbizan Petinari	
Envoltório nuclear.....	145
Morfologia do Envoltório Nuclear.....	146
Lâmina Nuclear.....	147
Comportamento da Lamina na Divisão Celular.....	148
Complexo de Poro.....	148
Cromatina.....	152
Nucléolo.....	153
Capítulo 11 – Ciclo Celular.....	157
Rafael Leonhardt e Roberta Barbizan Petinari	
Divisão do Ciclo Celular.....	158
Controle do Ciclo Celular.....	160

Proteínas-Cinase e Ciclinas.....	161
Reguladores da atividade das ciclinas.....	162
Morte Celular Programada.....	164
Apoptose.....	164
As Caspases.....	165
A Via Intrínseca da Apoptose Depende da Mitocôndria.....	166
A Via Extrínseca da Apoptose.....	167
Necrose celular.....	167
Fase M (Mitose).....	167
Prófase.....	169
Prometáfase.....	169
Metáfase.....	170
Anáfase	170
APC/C, Securina e Separases.....	170
Telófase	171
Citocinese.....	171
Meiose.....	172
Diacinese.....	176
Intercinese.....	177

Apresentação

Com a reformulação dos cursos de medicina e a carga horária reduzida algumas disciplinas, bastante extensas como a Biologia Celular, precisaram adequar-se para o cumprimento do plano de ensino, sem perder a qualidade das informações.

Diante desse cenário, a apostila tem como objetivo auxiliar o discente nesse processo efetivo de aquisição e aprofundamento do conteúdo.

O livro resumo foi desenvolvido por professores, técnicos e discentes da FAMMUC (Faculdade de Medicina do Mucuri) com intuito de englobar a percepção desses três níveis de maneira a torná-lo mais rico e didático.

O intuito dessa obra é enfatizar células animais, conforme o propósito do curso. Assim, estudaremos as células humanas e suas repercussões clínicas.

A célula é a menor unidade morfofuncional de um organismo. Dinâmica, sua forma e estrutura relacionam-se diretamente com sua função. As mais simples, não apresentam envoltório nuclear e nem organelas, são as procariontes. Com a evolução, as células eucariontes se desenvolveram e, além de organismos unicelulares e colônias, deram origem a organismos multicelulares com especializações de membrana, comunicação citoplasmática e matriz extracelular. E dentre os organismos multicelulares estão os fungos, os vegetais e os animais.

Finalizo agradecendo aos colaboradores, Franciane Pereira Brant, Layde Dayana Sierau, MS. Leandro Petinari e Rafael Leonhardt pelo empenho na elaboração desse material que auxiliará de forma efetiva os acadêmicos recém-ingressantes à Universidade.

Boas vindas e bons estudos!

Profª Drª Roberta Barbizan Petinari.

Capítulo 1

Microscopia

Roberta Barbizan Petinari

Como visualizamos as células?

Introdução:

A grande maioria das células apresentam dimensões microscópicas e são complexas, pois são formadas por diversas moléculas, possuindo vários compartimentos. Diante da difícil observação dos componentes celulares, para compreendermos sua morfologia, subcompartimentos e funções, necessitamos utilizar equipamentos e técnicas específicas. O **microscópio de luz** é o principal aparelho utilizado na compreensão celular, haja vista que esse aparelho age na ampliação e resolução do objeto observado. A microscopia de luz é a mais utilizada nos laboratórios de patologia, histologia e biologia celular, tanto na clínica e pesquisa quanto na graduação e pós-graduação. Em complemento ao microscópio fotônico, a **microscopia eletrônica** auxilia na pesquisa das estruturas celulares. Vale ressaltar que o conhecimento acerca da biologia celular é determinado pelas ferramentas disponíveis e depende do desenvolvimento de técnicas e equipamentos. Atualmente há uma diversidade de microscópios óticos e eletrônicos utilizados para diferentes finalidades como os exemplos a seguir: Microscopia de luz, de contraste de fase, de fluorescência, eletrônica de transmissão e de varredura.

1.1 Qual o principal equipamento utilizado pelo médico patologista para analisar a biópsia de um paciente?

Resposta: _____

Escala métrica:

Ao identificarmos a estatura de uma pessoa adulta estamos na escala do metro. Contudo, se medirmos a espessura de um papel ou fio de cabelo, partiremos para a escala de milímetros e micrômetros, pois o papel apresenta aproximadamente 150 micrômetros de espessura, enquanto um fio de cabelo 100 micrômetros. Como o olho humano tem resolução capaz de enxergar apenas até 100 micrômetros, os exemplos supracitados estão dentre os menores objetos visíveis a olho desarmado. A figura 1.1 apresenta uma série de imagens ilustrando a progressão a partir de um polegar até um grupo de átomos. As estruturas estudadas no módulo MDT002 se encontram na faixa da escala métrica do micrômetro (μm) e nanômetro (nm). Uma célula animal típica tem dimensões que variam de 10 a 30 μm de diâmetro, isso corresponde à 1/5 do tamanho da menor estrutura visível a olho desarmado.

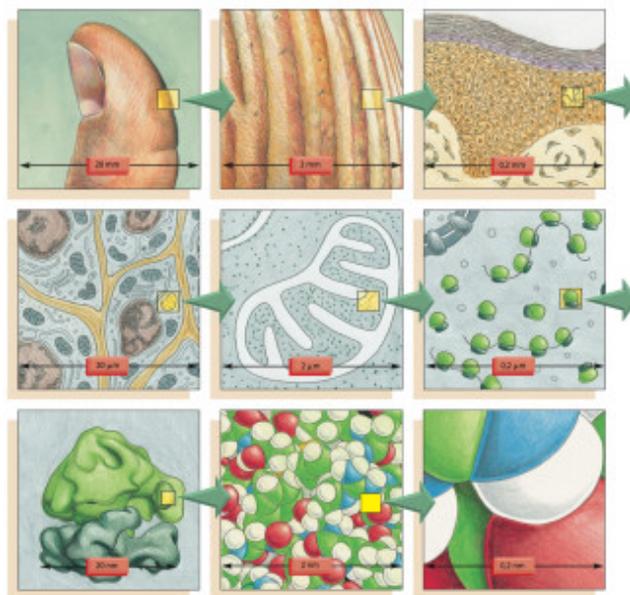


Figura 1.1 - Uma ideia da escala entre células vivas e átomos. Cada diagrama mostra uma imagem aumentada por um fator de 10 em uma progressão imaginária a partir de um dedo polegar, então células da pele, passando por um ribossomo, até um grupo de átomos, que formam parte de uma das várias moléculas de proteína em nosso corpo. Os detalhes atômicos das macromoléculas, como mostrado nos últimos quadros, normalmente estão além do poder do microscópio eletrônico.

Fonte: Alberts, (2007, p. 580)

Podemos observar e comparar as dimensões de algumas estruturas com auxílio da figura 1.1. Note que a célula da epiderme apresenta aproximadamente 35 micrômetros de diâmetro, a mitocôndria 4 micrômetros, o vírus da imunodeficiência adquirida, 90 nanômetros e a molécula de DNA 3 nanômetros de largura.

Lembre-se que um milímetro contém 1000 micrômetros e que 1 micrômetro equivale a 1000 nanômetros (ou seja, 1 nanômetro corresponde a 1×10^{-9} metros, que seria o mesmo que pegar 1 metro e dividir por 1 bilhão!). (Tabela1)

Tabela 1 - Múltiplos do metro mais utilizados na ciência celular.

NOME	Símbolo	Fator pelo qual a unidade é multiplicada
metro	m	$m = 1m$
centímetro	cm	$10^{-2} = 0,01m$
milímetro	mm	$10^{-3} = 0,001m$
micrometro	μm	$10^{-6} = 0,000001m$
nanometro	nm	$10^{-9} = 0,000000001m$

Fonte: própria (2020)

1.2 Liste os seguintes itens microscópicos do maior para o menor.

Grão de sal, célula epidérmica, hemoglobina, vírus influenza e molécula de água.

Resposta: _____

Resolução

Somente a ampliação não é o suficiente para conseguirmos observar um objeto microscópico, precisamos distinguir o que está sendo observado. Isso é denominado de resolução. O **poder de resolução** é definido como a menor distância entre dois pontos para que eles apareçam individualizados. O limite de resolução é determinado pelo comprimento de onda da luz bem como pela convergência ótica das lentes. Considerando esses dois determinantes, o **limite de**

resolução do microscópio de luz é de 0,1 - 0,2 micrometros. Destaca-se que o menor objeto observável pelo olho humano possui 100 micrômetros enquanto que os microscópios eletrônicos atingem limite de resolução de 0,2 nanômetros (Figura 1.2).

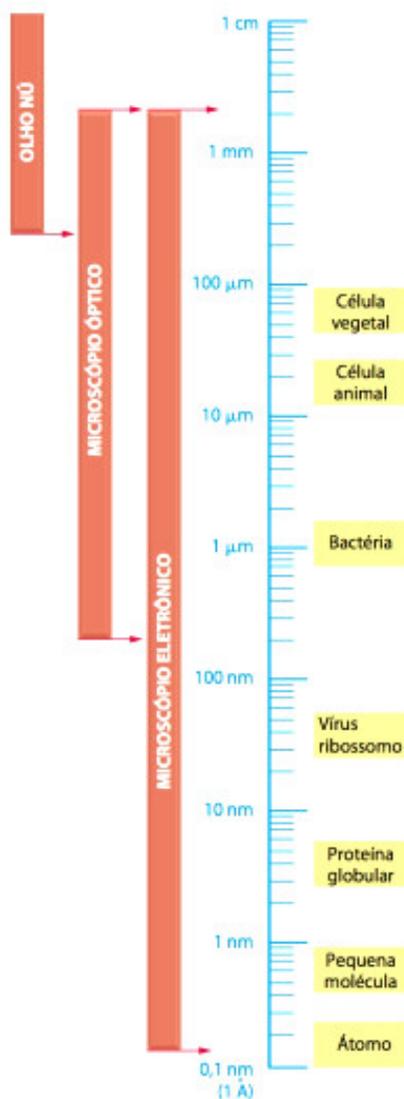


Figura 1.2 - Variação de dimensão discernida pelo olho humano, microscópio de luz e eletrônico.

Fonte: Alberts, (2007, p. 581)

1.3 Identifique um objeto que se encontra no limite de resolução do olho humano.

Resposta: _____

Microscópio de luz

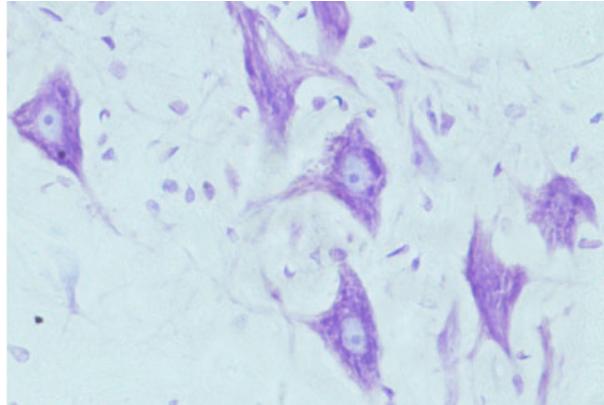


Figura 1.3 -: Neurônios motores de medula espinal de ratos em microscopia de luz.

Fonte: Barbizan e Oliveira, 2010

A microscopia baseia-se na formação de imagens ampliadas (Fig1.3) de objetos que são colocados diante de lentes esféricas. Assim, o microscópio fotônico depende da luz para a formação da imagem, lentes para ampliação dentre outros componentes (Fig 1.4). Eles podem ser classificados como simples ou compostos. Microscópio simples ou Lupa apenas possui uma lente ou um sistema de lentes centradas. O microscópio composto possui dois sistemas de lentes centradas, a ocular e a objetiva, para produzir uma imagem ampliada. Vamos focar nosso estudo no **microscópio de campo claro composto**, o mais utilizado nos laboratórios.

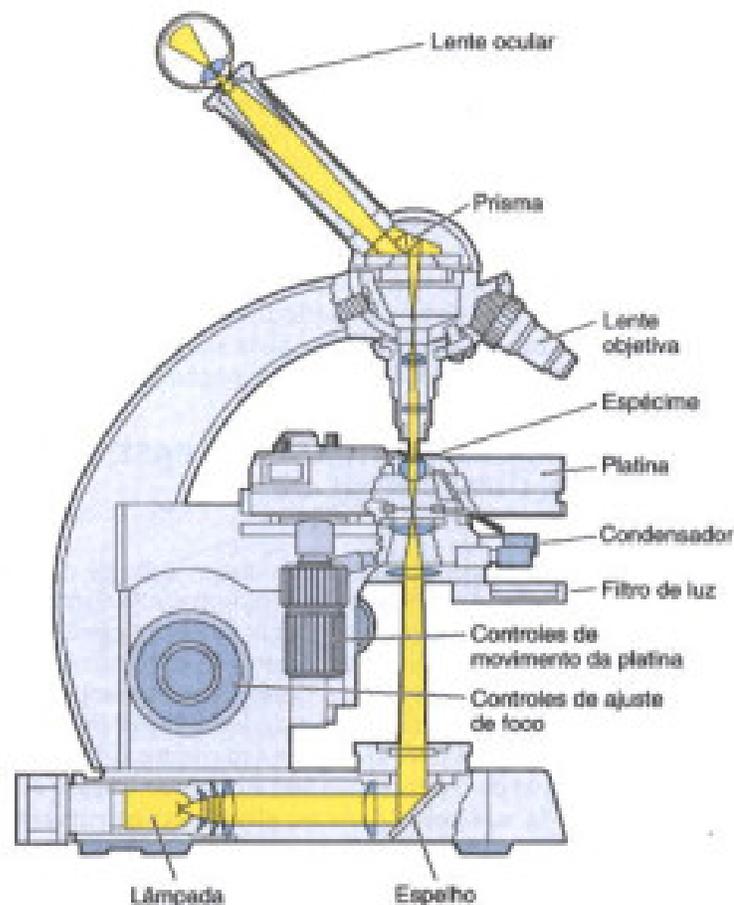


Figura 1.4: Desenho esquemático de um microscópio de luz mostrando seus componentes principais e o trajeto da luz desde a fonte luminosa até o olho do observador.

Fonte: Junqueira (2013, p.3)

O microscópio de luz é constituído por parte **mecânica e ótica** (Fig 1.5). A parte ótica refere-se ao sistema de lentes combinadas **ocular e objetivas**, responsáveis pela ampliação e **fonte de luz, diafragma e condensador** responsáveis pela iluminação do espécime.

A porção mecânica é composta pelas seguintes estruturas: base que sustenta o aparelho, braço que sustenta a platina e o revolver, platina onde se coloca a lâmina, com o charriot que permite a movimentação da lâmina, revólver que suporta as objetivas e os botões/parafusos macro e micrométrico que fazem parte do sistema de focagem pois ajusta a altura da platina para ajuste do foco.

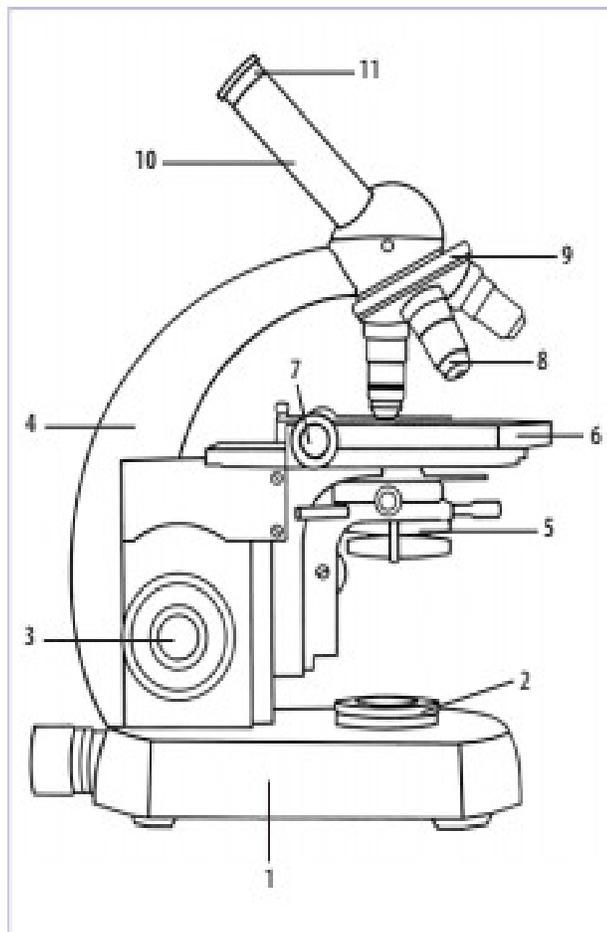


Figura 1.5 - Representação esquemática de um microscópio de luz. **Partes mecânicas** 1- base ou pé, 3- parafusos macro e micrométrico, 4 – haste ou braço, 6 -mesa ou platina, 7- *charriot*, 9- revolver das objetivas, 10- canhão. **Partes ópticas:** 2- fonte de luz, 5- lente condensadora ou condensador, 8- lentes objetivas, 11- lente ocular. Fonte: RECCO-PIMENTEL (2007, p. 46).

Normalmente os ML apresentam 4 objetivas com diferentes aumentos (**4x**, **10x**, **40x e 100x**), e a ocular com aumento de **10 vezes**. O aumento final é resultante do produto da ocular com a objetiva utilizada. Lembrando que, segundo a ótica geométrica com lentes convergentes, a imagem formada será, além de **ampliada**, **invertida** (tanto da direita para esquerda quanto de baixo para cima) dado que a formação da imagem nos microscópios é regida pelas leis da Física (Fig. 1.6). Ressalta-se que a formação da imagem depende da posição do objeto em relação ao plano focal (f) ou ao centro focal (c) da lente.

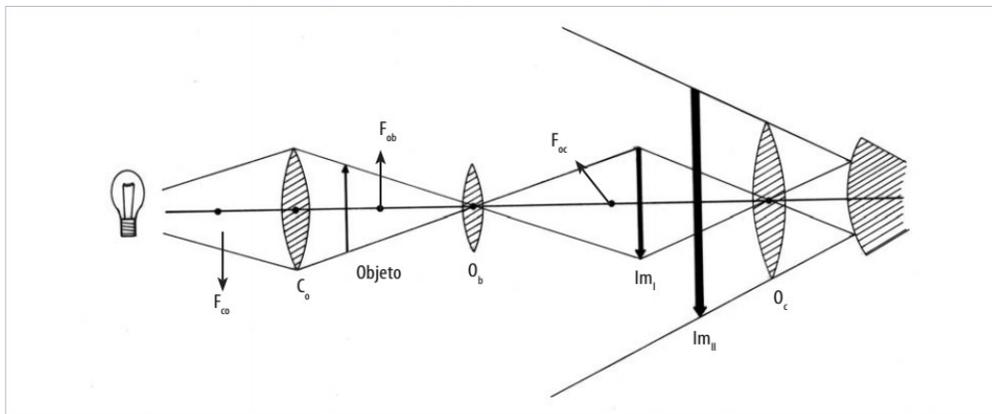
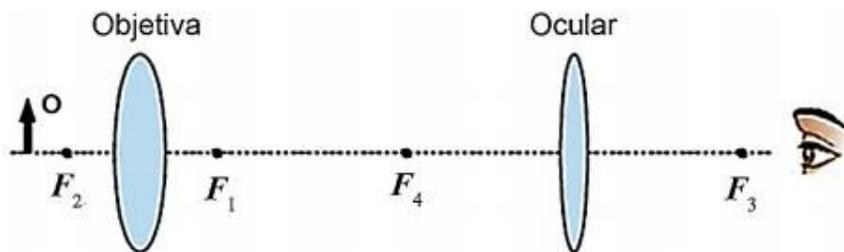


Figura 1.6 - Representação esquemática do trajeto da luz no processo de formação da imagem em um sistema óptico hipotético. Os fótons de luz são convergidos na lente condensadora (C_o) e interagem com o objeto que está posicionado antes do plano focal (F_{ob}) da lente objetiva (O_b). Isso, pelas leis da óptica, produzirá uma imagem real invertida (Im_I). Esta, por sua vez, servirá de objeto para a lente ocular (O_c). Nesse caso o objeto será lançado entre o plano focal (F_{oc}) e o centro focal da lente ocular, o que acarretará na formação de uma imagem virtual e direita (Im_{II}). Portanto, em relação ao objeto, a imagem final será invertida. Para melhor entendimento, não se fez o traçado dos raios luminosos no processo de formação das imagens. Fonte: RECCO-PIMENTEL (2007, p. 46)

1.4 Adaptado de UFPR 2013 - Um microscópio composto é constituído, em sua forma mais simples, por duas lentes convergentes colocadas em sequência, conforme esquematizado na figura abaixo. A lente mais próxima ao objeto é chamada objetiva e a lente mais próxima ao olho humano é chamada ocular. A imagem formada pela objetiva é real, maior e invertida, e serve como objeto para a ocular, que forma uma imagem virtual, direita e maior com relação à imagem formada pela objetiva.



A imagem final formada por este microscópio é _____, _____ e _____ em relação ao objeto.

Preparação

A luz precisa atravessar o espécime para permitir sua visualização, logo, o material deve ser bem delgado. Existe um método padrão de processamento do material para análise das amostras nos laboratórios de patologia e histologia (Tabela 2).

Etapa do processamento	Agente	Tempo médio	Função principal
Fixação	Formalina a 10%	12 a 24 horas (dependendo do material)	Preservação dos caracteres estruturais
Lavagem	Água corrente	Dobro do tempo da fixação	Remoção do excesso de fixador
Desidratação	Série crescente de álcool etílico (70%, 80%, 95%, 100%)	1 hora em cada banho	Retirada da água dos tecidos
Clarifcação ou diafanização	Xilol, benzeno ou tolueno (vários banhos)	30 a 60 minutos	Promover a retirada do álcool e permitir que a parafina penetre no tecido. Remove gordura dos tecidos, deixando-os translúcidos
Infiltração	Parafina líquida (60°C, vários banhos)	2 a 3 horas	Promover a entrada da parafina na intimidade dos tecidos para, depois de solidificada, constituir o bloco histológico
Emblocamento	Parafina pura ou acrescida de cera de abelha (10:1)	Alguns minutos	Depois de solidificada a parafina, facilita o corte histológico
Microtomia	Micrótomo	Indiferente	Promover cortes finos do tecido a ser estudado
Distensão do corte	Banho-maria	Indiferente	Distensão e pesca do corte em lâmina histológica
Secagem	Estufa a 37°C	12 horas	Adesão dos cortes na lâmina
Coloração	Corantes específicos	Depende do protocolo de coloração a ser utilizado	Evidenciar seletivamente as estruturas teciduais e celulares
Montagem	Bálsamo do Canadá ou resinas sintéticas	Alguns minutos	Preservação do material entre lâmina e laminula

Tabela 2: Principais etapas do processamento de um fragmento maciço para obtenção de cortes histológicos de rotina. Fonte: RECCO-PIMENTEL (2007, p. 58)

Resumidamente, um fragmento do material é fixado utilizando-se álcool ou aldeído para cessar sua degradação, na sequência ele será desidratado, diafanizado e incluído em blocos de parafina. Quando o material se encontra no bloco, obtém-se fatias de aproximadamente 10 micrômetro com auxílio do micrótomo (Fig 1.7) e esses cortes serão colocados nas lâminas de vidro.

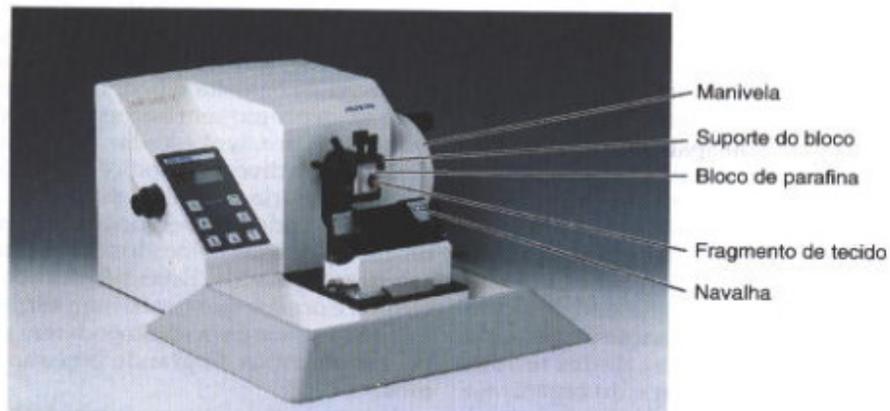


Figura 1.7 – Micrótomo para cortar tecidos incluídos em parafina ou resina. Fonte: Junqueira (2013. P. 2)

Entretanto ainda temos outro empecilho; como as células apresentarem índice de refração próximo ao do vidro sua observação se torna difícil. Para contornar esse problema, recorre-se ao uso de **corantes** e **técnicas histoquímicas** a fim de aumentar o contraste para melhor estudarmos suas estruturas. A técnica amplamente utilizada nos laboratórios histológicos e de diagnóstico é a coloração de hematoxilina-eosina (HE). Contudo, frequentemente o médico patologista, ou o pesquisador, precisam de técnicas complementares ao HE para conseguir alcançar o diagnóstico correto. Isso pode ser realizado com diversos corantes (citoquímica) ou ainda imunocitoquímica.

1.5 UFPB 2009 Após a inclusão de tecido em parafina, este deve ser cortado num micrótomo. Considerando a função do micrótomo, julgue os itens abaixo:

- I. Realização de cortes de células.
- II. Realização de cortes histológicos seriados.
- III. Realização de fatias de epitélios.
- IV. Realização de cortes histológicos individuais.
- V. Realização de cortes corados de tecidos.

1.6 UFPB 2009 A citologia esfoliativa é um método importante para o diagnóstico clínico de tumores, de infecções e de função hormonal no sexo feminino. O material para esse tipo de diagnóstico é geralmente obtido por raspagem ou coleta de células descamadas naturalmente. Partindo desse pressuposto, julgue as assertivas abaixo:

I. O material é distribuído numa lâmina, fixado, corado e montado, e analisado com o microscópio.

II. É feito um esfregaço, fixado, montado e analisado ao microscópio.

III. O material raspado é cortado e distribuído numa lâmina, fixado, corado e montado, e analisado ao microscópio.

IV. O método de coloração mais utilizado para este tipo de diagnóstico é o Papanicolau.

V. É feita uma distribuição do material, montado e observado ao microscópio.

Imunocitoquímica

Identifica proteínas de interesse (antígeno) nos cortes de tecidos biológicos devido a reações específicas da interação anticorpo-antígeno. Para isso utiliza-se uma molécula marcadora acoplada ao anticorpo que vai se ligar a molécula de interesse (Tabela 3). O anticorpo pode ser conjugado com uma enzima ou um composto fluorescente.

Antígenos	Finalidade Diagnóstica
Proteínas de filamentos intermediários	
Citoqueratinas	Tumores de origem epitelial
Proteína fibrilar ácida glial	Tumores de certas células da neurógliã
Vimentina	Tumores de tecido conjuntivo
Desmina	Tumores de tecido muscular
Outras proteínas	
Hormônios protéicos ou polipeptídicos	Tumores produtores de hormônios protéicos ou polipeptídicos
Antígeno carcinoembrionico (CEA)	Tumores de glândulas, principalmente as do tubo digestivo e das glândulas mamárias
Receptores para hormônios esteróides	Tumores das células dos ductos das glândulas mamárias
Antígenos de vírus	Infecções virais

Tabela 3: Exemplo de proteínas (antígenos) para diagnósticos de algumas doenças. Fonte: Junqueira (2013. P. 21)

Imunofluorescência

Uma molécula com propriedade fluorescente emite luz quando exposta a uma fonte ultravioleta (UV). Existem componentes biológicos naturalmente fluorescentes (clorofila, elastina, colágeno, lignina) enquanto outros precisam ser marcados ligando-os a fluorocromos (Fig. 1.8). O microscópio de fluorescência precisa, em contraste ao óptico, interagir pouco com a luz, utilizando assim uma luz de mercúrio, além de apresentar filtros de excitação e de barragem. Os filtros de excitação selecionam o comprimento de onda desejado enquanto que os filtros de barragem impedem a passagem para a ocular da luz de excitação, permitindo a passagem somente da luz fluorescente emitida pela amostra.

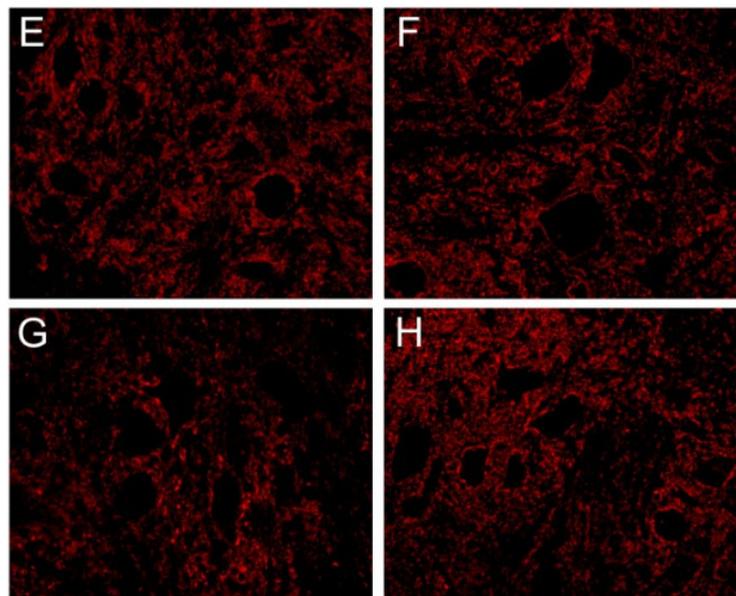


Figura 1.8- Fluorescência evidenciando sinapses ao redor dos motoneuronios (preto). Fonte: Barbizan *et al*, 2014.

Interpretação

Durante o trabalho no microscópio, deve-se atentar que **a ampliação provoca redução proporcional do campo observado**. O campo visualizado

diminui o inverso que o aumento concedido. Ou seja, se aumentamos 5 x, observamos a imagem 5x maior, contudo enxergamos 5x menos estruturas ao redor. Também precisamos ter cautela na interpretação dos cortes, pois, não podemos esquecer que estamos com uma imagem 2D de um objeto 3D (Fig. 1.9). Dessa maneira, conforme o ângulo que a estrutura se encontrava quando o material foi seccionado, podemos obter diferentes formas, conforme demonstrado na figura abaixo.

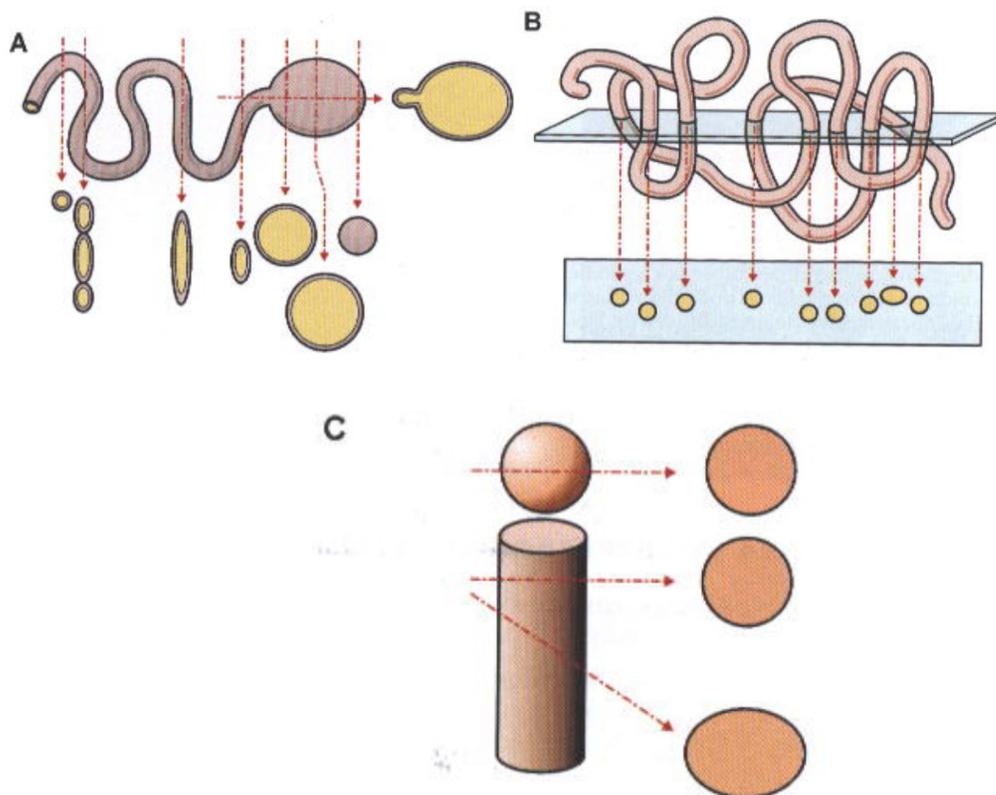


Figura 1.9 - Como diferentes estruturas tridimensionais são observadas após serem cortadas em seções delgadas. A: Diferentes seções de uma esfera oca e de um tubo oco. B: Um corte ao longo de um tubo enovelado pode ser visto como cortes de vários tubos. C: Cortes através de uma esfera sólida e através de um cilindro sólido podem ser semelhantes. Fonte: Junqueira (2013, pg 22)

Por fim, temos que ter em mente que todo o processo da confecção das lâminas compõe etapas drásticas para um tecido, isso pode resultar em distorções no material analisado que não existem na realidade. Podem ocorrer espaços causados pela retração das estruturas durante a fixação e desidratação ou ainda, perda de alguma molécula durante as etapas de preparação. É comum também a

formação de pregas no corte e precipitados de corantes ou sujeira que confundem observadores com pouca prática.

Como observar estruturas menores que 0,2 μm ?

Microscopia eletrônica

O poder resolvente, ou seja, a capacidade para obtenção de detalhe na visualização de um objeto da microscopia de luz é limitada pelo comprimento de onda da luz visível, limitando assim a ampliação máxima aplicável em 0,1 μm . O avanço da microscopia se consolidou após identificação que no vácuo os elétrons possuem comportamento ondulatório semelhante ao dos fótons da luz, entretanto, quando acelerados, os elétrons apresentam comprimento de onda mais curto que fótons e assim, podem evidenciar estruturas muito menor do que com a luz visível ditando na prática seu limite de resolução em 0,1 nm. Nesse sentido, os microscópios eletrônicos (ME) são mais poderosos que os microscópios de luz por possuírem um poder de resolução bem maior.

Embora os fundamentos por trás do funcionamento de um microscópio eletrônico sejam similares aos do microscópio de luz, há diferenças consideráveis. Além da utilização de elétrons acelerados substituindo a luz, o correspondente as lentes da microscopia de luz são as bobinas na microscopia eletrônica (Fig. 1.10).

O alto poder de resolução do ME tem um custo considerável, ou seja, as preparações do material para microscopia eletrônica são mais complexas, demoradas e onerosas se comparadas a ML.

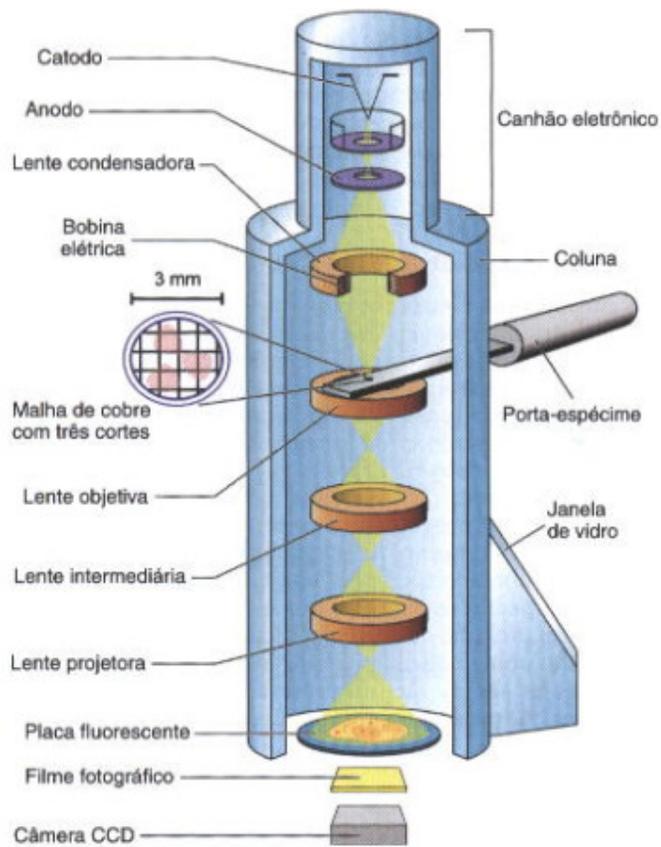


Figura 1.10 - Desenho esquemático de um microscópio de transmissão com seus principais componentes. Fonte: Junqueira, 2013 pg 7

1.7 Complete a tabela abaixo com as principais diferenças entre as microscopias de luz e eletrônica quanto aos aspectos de funcionamento e formação da imagem:

Aspectos de comparação	Microscópio de luz	MET
Fonte		
Lente		
Limite de resolução		
Formação da imagem		

No **microscópio eletrônico de transmissão**, os elétrons passam através da amostra antes de formar a imagem (Fig 1.10). Já no **microscópio eletrônico de varredura**, os elétrons batem na superfície da amostra e, então, são refletidos, sendo formada a imagem. Esse caminho simplificado do feixe de elétrons já permite entender porque as imagens fornecidas por cada um desses tipos de microscópio diferem tanto uma da outra: a imagem do microscópio de transmissão possui uma configuração plana (fig. 11), enquanto a do microscópio de varredura é tridimensional, dando ideia de profundidade.

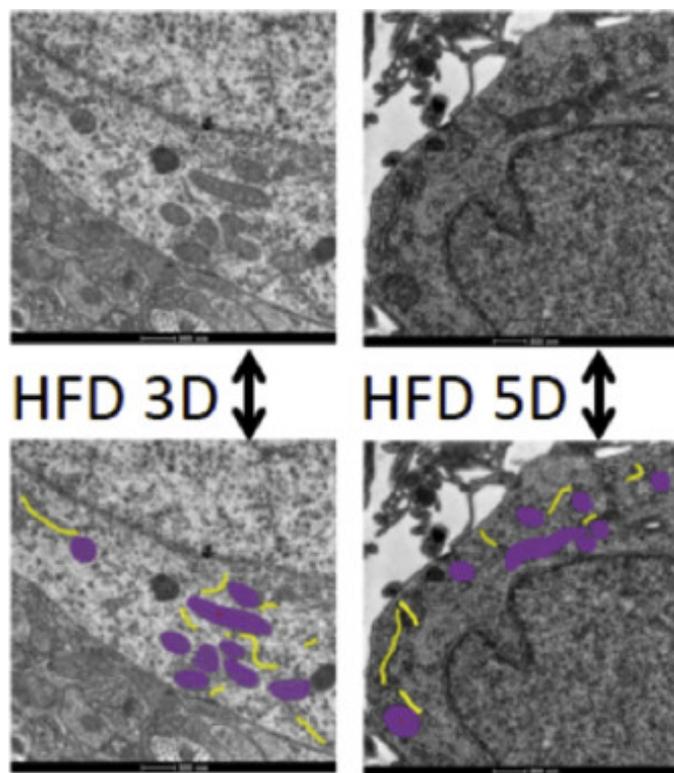


Fig 1.11 - Eletromicrografia de neurônios hipotalâmicos de camundongos evidenciando mitocôndrias (lilás) e retículo endoplasmático (amarelo). Fonte: Carraro *et al*, 2018.

Enquanto no microscópio de luz e no eletrônico de transmissão é preciso ser feito um corte bastante fino para que a amostra possa ser observada, no de varredura é possível observar uma estrutura intacta como, por exemplo, a cabeça de um mosquito.

Principais etapas da preparação das amostras para MET

- Fixação
- Desidratação
- Inclusão (resinas)
- Cortes
- Contrastação com metais pesados

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S. M.. **A Célula**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2013.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J; **Histologia Básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

BARBIZAN, R. ; OLIVEIRA, A.L. Influence of Delivery Method on Neuroprotection by Bone Marrow Mononuclear Cell Therapy following Ventral Root Reimplantation with Fibrin Sealant. **J Neuroinflammation**. 7: 29. (2010)

CARRARO RS, SOUZA GF, SOLON C, RAZOLLI DS, CHAUSSE B, BARBIZAN R, VICTORIO SC, VELLOSO LA. Hypothalamic mitochondrial abnormalities occur downstream of inflammation in diet-induced obesity. **Mol Cell Endocrinol** (2018).

Questões:

- 1) Defina limite de resolução.
- 2) Determine o limite de resolução do olho humano, microscópio fotônico e eletrônico. Dê exemplo de estruturas que estão fora do limite de resolução do olho humano, mas sob o alcance de resolução do microscópio de luz.
- 3) Cite as diferenças entre microscopia de luz e microscopia eletrônica.
- 4) O que significa fixar uma célula e corar uma célula
- 5) Quais os procedimentos para processar um tecido biológico visando à observação convencional ao microscópio de luz?
- 6) (Fiocruz 2010) A microscopia de luz convencional difere da microscopia eletrônica de transmissão em relação a alguns aspectos como os tipos de lentes, o limite de resolução e a formação da imagem. Considerando esses aspectos, a afirmativa CORRETA é:
 - A) A microscopia eletrônica de transmissão, assim como a de luz convencional, utiliza lentes de vidro.
 - B) O limite de resolução do microscópio de luz convencional é menor que o da microscopia eletrônica de transmissão.
 - C) As estruturas celulares com dimensões de 2nm não podem ser visualizadas pela microscopia de luz convencional.
 - D) A formação da imagem na microscopia eletrônica de transmissão ocorre por absorção e dispensa o uso de corantes.
 - E) A formação da imagem na microscopia de luz convencional ocorre por elétron-opacidade.
- 7) Ano: 2016 Banca: CESPE Órgão: POLÍCIA CIENTÍFICA - PE Prova: Perito Criminal – Física O microscópio é um instrumento óptico formado por duas lentes convergentes associadas para gerar imagens ampliadas de objetos pequenos. A lente próxima do objeto é conhecida como objetiva, e a lente próxima ao olho do observador é conhecida como ocular e amplia a imagem fornecida pela objetiva.

A respeito do processo de formação de imagens em um microscópio, assinale a opção correta.

a) A imagem gerada pela objetiva não será invertida em relação ao objeto.

b) A imagem gerada pela objetiva se localiza entre a lente ocular e o seu foco.

c) A imagem gerada pela objetiva é virtual, pois ela será objeto da lente ocular.

d) A imagem final gerada pela ocular é real e invertida em relação ao objeto.

e) A distância entre o objeto e a lente objetiva deve ser um pouco menor que a distância focal da objetiva.

8) Ano: 2016 Banca: IFBÓrgão: IFBProva: Técnico em Laboratório - Biologia

O microscópio óptico é um instrumento que utiliza feixe de luz visível para observar objetos extremamente pequenos, tais como, células e algumas de suas estruturas. Para tanto, é necessário utilizar um jogo de luz visível, lentes, objetivas e oculares. Levando em consideração as principais partes de um microscópio,

marque F para as alternativas FALSAS e V para as VERDADEIRAS:

I) O microscópio óptico permite aumentar o tamanho da célula em até 1000 vezes, para tanto é necessário utilizar a objetiva que aumenta a imagem em 50 vezes e a ocular que aumenta a imagem em 20 vezes.

II) O tamanho máximo das estruturas observadas no microscópio óptico é de 0,2 micrômetros. Essa limitação é imposta pela qualidade das lentes, não pelo comprimento de onda da luz.

III) O caminho correto da luz em um microscópio óptico é: fonte de luz, condensador, espécime, objetiva, ocular e olho humano

IV) A imagem captada pelo olho humano em um microscópio óptico é invertida. Esse evento ocorre quando a luz visível passa pelo condensador.

A combinação CORRETA das alternativas acima é, respectivamente:

a) F, V, V, F

b) V, F, F, V

c) V, V, F, V

d) F, F, V, F

e) F, F, F, V

9) UFPB 2009. Julgue os cinco itens abaixo como certo ou errado:

A citologia esfoliativa é um método importante para o diagnóstico clínico de tumores, de infecções e de função hormonal no sexo feminino. O material para esse tipo de diagnóstico é geralmente obtido por raspagem ou coleta de células descamadas naturalmente. Partindo desse pressuposto, julgue as assertivas abaixo:

- I. O material é distribuído numa lâmina, fixado, corado e montado, e analisado com o microscópio.
- II. É feito um esfregaço, fixado, montado e analisado ao microscópio.
- III. O material raspado é cortado e distribuído numa lâmina, fixado, corado e montado, e analisado ao microscópio.
- IV. O método de coloração mais utilizado para este tipo de diagnóstico é o Papanicolau.
- V. É feita uma distribuição do material, montado e observado ao microscópio.

10) (UFPB 2009) Após a morte do indivíduo ou quando retirados do organismo vivo, os tecidos sofrem autólise ou deterioração. Portanto, devem ser conservados para evitar essa deterioração e preservar, dentro

do possível, a forma e a estrutura que tinham durante a vida. A partir desse pressuposto, julgue as assertivas abaixo:

- I. A preservação dos tecidos pode ser feita pelo frio, pelo calor e pela ação de substâncias químicas.
- II. A preservação dos tecidos somente pode ser feita pela ação de substâncias químicas.
- III. A preservação somente pode ser feita pelo formol.
- IV. O frio e o calor não são bons preservadores de tecidos e células.
- V. O formol é uma substância inapropriada para a preservação de estruturas celulares.

11) UFPB 2009 O microscópio óptico é um aparelho que nos permite a observação de células ou tecidos corados. Considerando que esse equipamento é constituído de uma parte mecânica e outra parte óptica, julgue as assertivas abaixo:

- I. A parte mecânica é constituída por objetivas, parafusos macro e micrométricos e estativa.
- II. A parte óptica é constituída por objetivas e oculares.

III. Fazem parte dos componentes ópticos: oculares, objetivas, condensador, fonte de iluminação.

IV. A platina serve para movimentar a lâmina para a esquerda e para a direita.

V. O parafuso micrométrico serve para fazer a focalização fina.

Capítulo 2

Biomembranas

Franciane Pereira Brant

Constituição e Estrutura da Membrana Plasmática

A **membrana celular (MP)** é um envoltório que reveste todas as células, além de estar presente em todas as organelas como: Mitocôndrias, Retículo Endoplasmático, Aparelho de Golgi, Lisossomos, Endossomos, Vesículas de Secreção, Peroxissomos e Envoltório Nuclear. As membranas celulares possuem a mesma organização básica de duas camadas lipídicas **fluidas** e **contínuas** (a **bicamada**) com moléculas proteicas; denominado modelo mosaico fluido (Fig. 2.1).

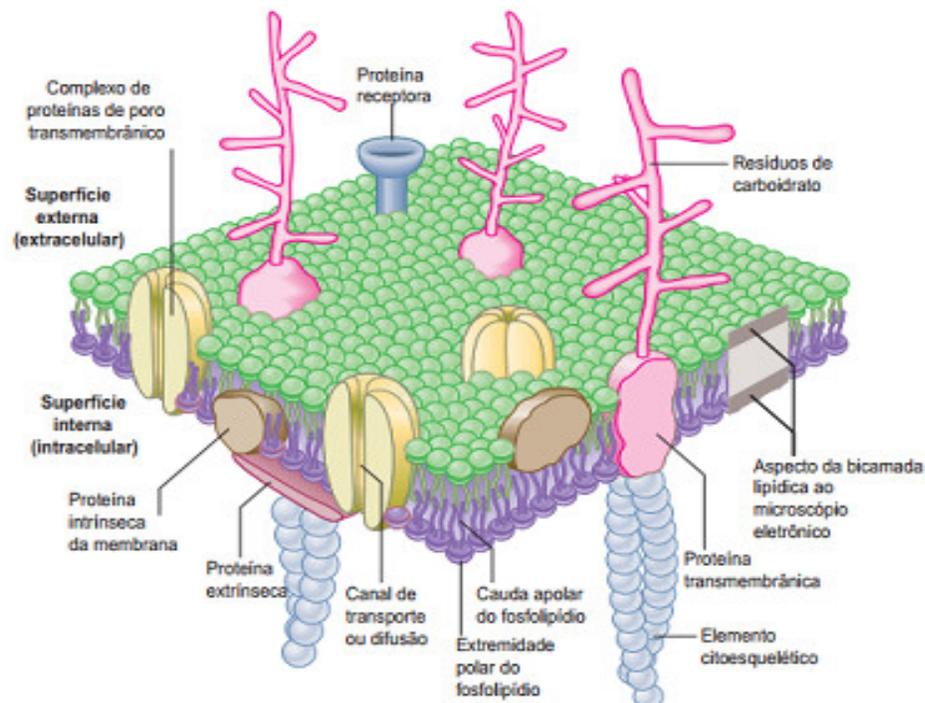


Fig.2.1 - Organização molecular da membrana plasmática de acordo com o modelo de mosaico fluido. (Figura retirada do livro Gray's Anatomy, p. 5, 2010).

A MP é formada de macromoléculas anfipáticas (de **lipídios** e **proteínas**), além de **hidratos de carbono**, mantidas por interações hidrofóbicas. Essa interação define os limites entre as células e o meio extracelular. Há bastante variação na proporção dessas moléculas, conforme o tipo de membrana. A porção **lipídica** é composta principalmente de fosfolipídios, além de esfingolípideos e colesterol. As membranas celulares são sintetizadas pelo retículo endoplasmático em conjunto com o aparelho de Golgi.

2.1 Podemos ver a MP no microscópio de luz? Explique.

Resposta: _____

Funções da Membrana Plasmática

- Formam **compartimentos** intracitoplasmáticos, isolando as organelas membranosas, individualizando-as em funções e características;
- Funcionam como **barreiras de permeabilidade seletiva** que regulam a passagem de substâncias entre a célula e o meio externo ou entre as organelas membranosas e o citoplasma;
- Participam do **transporte** e/ou **armazenamento** de substâncias por meio da formação de vesículas membranosas;
- Algumas membranas geram gradientes iônicos que podem ser utilizados para sintetizar ATP ou para produzir e transmitir sinais elétricos;

Na superfície externa das células há vários **sítios receptores** ou de **reconhecimento** que podem interagir com outras moléculas ou mesmo com outras células.

Composição dos lipídios da Membrana Plasmática

A **porção lipídica** da membrana é constituída de moléculas longas com extremidade hidrofílica ou anfifílica (solúvel em água ou polar) e uma extremidade hidrofóbica (solúvel em lipídios ou apolar) formados de fosfoglicerídeos (fosfolípídeo mais abundante), de esfingolípídeos, de esteroides (colesterol), glicolípídios.

Os fosfolípídios são as moléculas mais abundantes nas membranas e apresentam no mínimo uma cadeia insaturada. A quantidade de insaturações é que irá influenciar tanto na aproximação e movimentação desses ácidos graxos, quanto na fluidez e espessura da bicamada lipídica (Fig 2.2).

O colesterol está intimamente relacionado com a fluidez e a permeabilidade da membrana, uma vez que se insere ao lado dos fosfolípídios, dificultando o transporte pela bicamada. Os glicolípídios na membrana celular aparecem na face externa como componentes do glicocálice, conferido assimetria entre as duas faces da membrana.

Os esfingolípídeos são componentes da MP em menor quantidade, estando presentes em maior frequência nas células nervosas.

FUNÇÕES DOS FOSFOLIPÍDIOS NA MEMBRANA
Formam a bicamada que estrutura e dá forma às membranas biológicas;
Permitem o transporte pela membrana de moléculas apolares pequenas, como O ₂ , CO ₂ , N ₂ ;
Permitem o transporte de moléculas apolares e lipossolúveis;
Permitem o transporte pela membrana de moléculas polares pequenas, como a água, o glicerol e o etanol;
Impedem o transporte de moléculas polares grandes e sem carga elétrica;
Impedem o transporte de moléculas grandes (de alto peso molecular) e/ou carregadas eletricamente, mesmo pequenos íons como Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻

Quadro 1 - Retirado do livro de "A célula" de Carvalho e Recco-Pimentel, p.116, 2013.

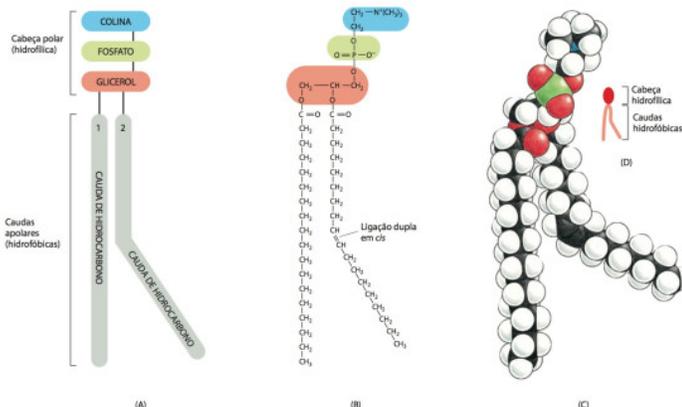


Fig. 2.2 - Representações da molécula de fosfolípido: em (A) fosfatidilcolina, em (B) a fórmula, em (C) modelo de preenchimento espacial e em (D) o símbolo. A flexão é resultante da ligação dupla em cis. FONTE: “Biologia Molecular da Célula” de Bruce Alberts, p.619, 2010.

Composição das proteínas da Membrana Plasmática

Embora existam diferenças entre os lipídios que influenciam nas propriedades das diversas membranas, a atividade metabólica e suas funções dependem das **proteínas**. Cada tipo de membrana terá suas próprias proteínas. Elas são divididas em 2 grandes grupos, as **integrals** (ou **intrínsecas**) e as **periféricas** (ou **extrínsecas**) (Fig. 2.3).

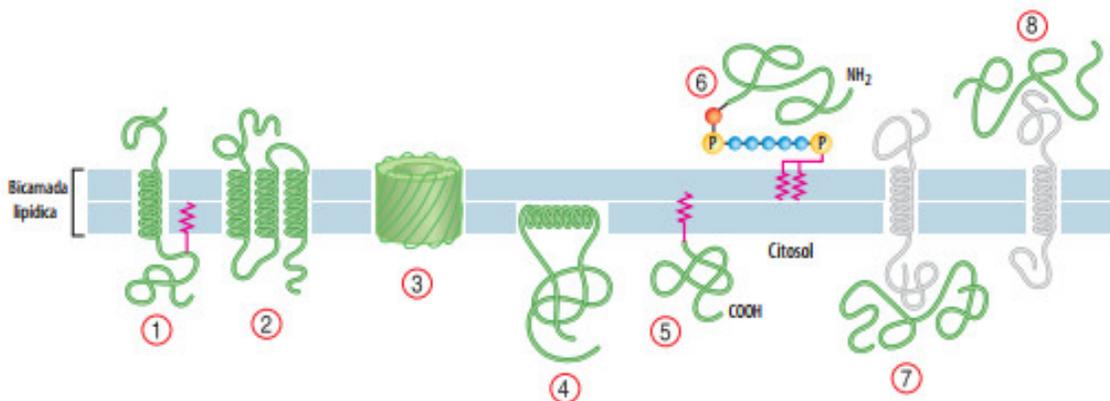


Fig. 2.3 - Interações de proteínas com as membranas. Em (1-3) proteínas transmembrânicas, alfa-hélices inseridas (1-2), (3) folha pregueada formando betabarril, (4) proteínas semi-inseridas na membrana por alfa-hélices anfílicas, (5-6) proteínas ancoradas a lipídios e (7-8) proteínas ligadas a outras proteínas. Modificada de Alberts et al. Fonte: de Carvalho e Recco-Pimentel

As **proteínas integrais** formam fortes associações com os lipídios, incluindo a maioria das enzimas da membrana, como as glicoproteínas (responsáveis pelos grupos sanguíneos M-N), as **proteínas transportadoras** (possuem canais de difusão ou transporte), as **receptoras de hormônios, fármacos e lectinas** e moléculas de adesão. Podem ser **transmembrânicas/intrínsecas**, as que atravessam por inteiro a bicamada lipídica uma única vez (as **unipasso**), ou as transmembranas **multipassos**, as que atravessam várias vezes a bicamada. Ambas com domínios tanto extracelulares quanto citoplasmáticos. As proteínas transmembranas têm zonas hidrofóbicas, que atravessam a bicamada fosfolipídica, permitindo que a proteína “flutue” no plano da membrana, conhecido como o modelo do mosaico fluido. Quando seus domínios citoplasmáticos são fixados ao citoesqueleto, algumas proteínas são restringidas quanto à liberdade de movimento (Fig. 2.1).

Já as proteínas extrínsecas ou periféricas prendem-se à superfície interna ou externa da membrana plasmática através de interações fracas. Muitas dessas proteínas localizam-se voltadas para o citoplasma, onde interagem só nessa face.

As proteínas ancoradas à membrana: são localizadas fora da bicamada lipídica e ligadas covalentemente a ela. Tem como funções o transporte de íons e moléculas polares, interagem com hormônios, promovem a transdução de sinais através de membranas e até sua estabilização estrutural.

Indivíduos, com alterações genéticas nos eritrócitos na estrutura da espectrina (um tipo de proteína presente no córtex celular), terão anemia, apresentam baixo número de eritrócitos e com formato esférico em vez de bicôncavo, além de bastante frágeis.

2.2 Os diferentes tipos de transplantes representam um grande avanço da medicina. Entretanto, a compatibilidade entre doador e receptor nem sempre ocorre, resultando em rejeição do órgão transplantado. Qual seria o componente da membrana plasmática envolvido no processo de rejeição? Explique.

Resposta: _____

As lectinas, proteínas responsáveis pelo reconhecimento celular, são capazes de reconhecer e se ligar de forma rápida, específica e reversível a carboidratos, não sendo nem enzimas, nem anticorpos. As lectinas estão relacionadas com a interação de vários tipos celulares em diferentes processos fisiológicos que envolvem adesão célula-célula como, por exemplo, na interação do espermatozoide com o óvulo, na remoção de glicoproteínas do plasma sanguíneo pelas células hepáticas e na resposta inflamatória. Alguns tipos de lectinas interagem preferencialmente com células tumorais, o que indica que essas células diferem das células normais correspondentes quanto à glicosilação da superfície celular. As células tumorais carregam em sua superfície lectinas que não são encontradas em células normais, estando envolvidas na invasão tumoral e na formação de metástases, além de apresentarem uma glicosilação aumentada. As células tumorais, por exemplo, apresentam alterações na composição lipídica e nos tipos de carboidratos presentes na superfície celular, além de possuírem proteínas de membranas com atividade alterada.

Selectinas atuam na interação entre as células do sistema imune com as células que compõem a parede dos vasos sanguíneos, as células endoteliais. As selectinas são proteínas de adesão celular que promovem em sua grande maioria interações do tipo célula-célula. Na extremidade extracelular dessas proteínas existe um domínio estrutural semelhante as lectinas, que reconhece os açúcares presentes na superfície de outros tipos celulares.

Carboidratos (os açúcares)

Os carboidratos mais comuns nas membranas são glicose, galactose, manose, fucose, N-acetilgalactosamina e ácido N-acetilneuramínico (ou ácido siálico). Todos voltados para o meio extracelular, enquanto nas membranas das organelas citoplasmáticas, voltam-se para o interior destas (ou lúmen). A função mais importante dos açúcares nas membranas é o reconhecimento molecular, o que permite a identificação e interação de diferentes tipos celulares (vide glicocálice).

Um exemplo disso é a especificação dos grupos sanguíneos do sistema ABO. Os grupos sanguíneos humanos são determinados em parte por uma sequência de oligossacarídeos presentes em esfingolipídios da membrana plasmática dos eritrócitos.

As Glicoproteínas e Glicolipídios São Marcadores Responsáveis pelos Grupos Sanguíneos.

Os grupos sanguíneos M-N são devidos tanto à parte proteica quanto a glicídica da glicoforina, presente na membrana dos eritrócitos.

Os grupos A-B-O se formam pelas pequenas variações na estrutura dos hidratos de carbono presentes (glicolipídios e glicoproteínas) na membrana dos eritrócitos. Ex.: o tipo A apresenta a hexose modificada N-cetilgalactosamina em uma determinada posição das moléculas de hidratos de carbono da superfície. O tipo B tem na mesma posição a galactose. O tipo AB possui uma dessas anteriores na mesma posição. O tipo O, a posição para esses hidratos de carbono encontra-se desocupada sem nenhum desses açúcares.

Quadro 2 – Glicoproteínas e Glicolipídios como Marcadores de Grupos Sanguíneos. 'A célula' de Carvalho e Recco-Pimentel, 2013.

FUNÇÕES DOS CARBOIDRATOS

- Os carboidratos (oligossacarídeos em geral, mas eventualmente polissacarídeos) nas membranas estão ligados covalentemente às proteínas ou aos lipídios que as compõem, sempre voltados para a face não citoplasmática. Podem ser atribuídas aos carboidratos de membrana as seguintes funções: Confere um ambiente negativo à superfície das células, por apresentar carga elétrica negativa;
- Forma um microambiente hidratado na face de membrana na qual está presente, por atrair água;
- Forma uma camada que pode impedir o contato de enzimas com a membrana, protegendo-a, por se projetar além da bicamada;

- Pode impedir ou favorecer a adesão celular, dependendo do tipo de carboidrato predominante presente na membrana;
- Fornece um ambiente molecular característico, em função da grande variedade de informações fornecidas pelas cadeias oligossacarídicas, que podem ser reconhecidas e identificadas por receptores proteicos. Confere às células uma “característica” molecular própria a cada tipo celular.

Quadro 3 - Informações retiradas do Quadro 7.4 do livro de 'A célula' de Carvalho e Recco-Pimentel, p.109, 2013.

As Células se Reconhecem

A superfície celular possui especificidade o que permite o reconhecimento mútuo entre elas. A presença de receptores específicos na membrana plasmática auxilia no reconhecimento de outras células e de diversas moléculas (como hormônios). Isso dá-se através da ligação de uma molécula específica a um ligante ou sinais químicos a esses receptores. Isso desencadeia uma resposta que varia conforme a célula e o estímulo recebido, podendo ser uma contração ou movimento celular, uma inibição ou estimulação de secreção, uma síntese de anticorpos, uma proliferação mitótica por exemplo.

A inibição por contato, por exemplo, é uma propriedade perdida pelas células cancerosas que continuam a mitose, depois de se encontrarem, continuam se dividindo e amontoam-se desordenadamente uma sobre as outras.

Glicocálix (cobertura ou revestimento celular)

A membrana plasmática difere estruturalmente das membranas internas porque possui uma capa externa difusa rica em carboidrato, conhecida como a **cobertura celular** ou **glicocálix**, composta das porções de carboidrato das glicoproteínas e glicolipídios da membrana plasmática.

O glicocálice é em grande parte responsável pela carga elétrica negativa encontrada na superfície da célula. Ele é uma extensão da própria membrana e não uma camada separada. Fica-se na superfície externa da membrana plasmática, região rica em hidratos de carbono ligados a proteínas ou lipídios (Fig. 2.4).

A sua composição não é estática, varia de tipo celular, ou na mesma célula, ou na própria região da membrana, conforme a atividade funcional em um determinado momento.

Uma das glicoproteínas mais abundantes secretadas pelo glicocálice é a fibronectina. Essa molécula possui regiões que se combinam com moléculas do meio extracelular e das moléculas da superfície de outras células. Tem como função unir as células entre si e à matriz extracelular, estabelecendo uma continuidade entre o citoesqueleto e as macromoléculas da matriz extracelular (Fig. 2.4).

As células do tecido epitelial de revestimento ligam-se ao colágeno pela glicoproteína laminina, secretada pelas células epiteliais e passam a fazer parte do seu glicocálice.

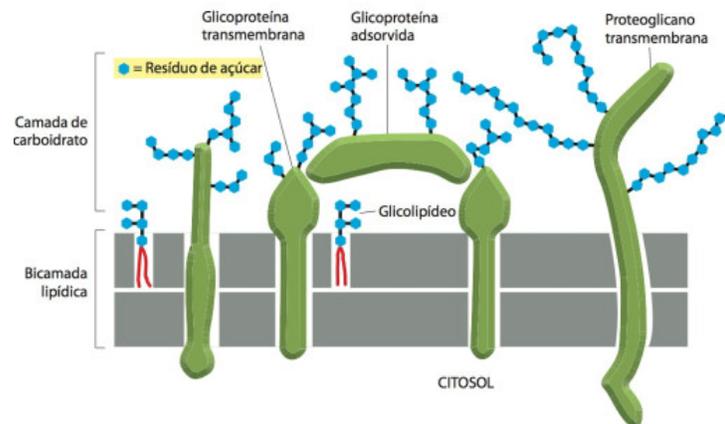


Fig 2.4 - FONTE: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.637, 2010.

2.3 O que difere a membrana plasmática das membranas internas das organelas?

Resposta: _____

A Assimétrica da Membrana Plasmática

Embora a organização molecular básica seja a mesma, há muita variação na composição química e nas propriedades biológicas, conferindo assimetria entre as faces da membrana plasmática tanto na porção lipídica quanto proteica.

Assim, uma mesma membrana plasmática de células do epitélio do revestimento intestinal pode apresentar áreas diferenciadas. Um exemplo disso é a membrana dos microvilos que contém dipeptidases e dissacaridases que não existem no restante das outras áreas dessas mesmas células.

Nos lipídios da membrana dos eritrócitos, por exemplo, a camada externa é rica em fosfatidilcolina, enquanto que a interna (lado citoplasmático) é rica em lecitina com o fosfatidilserina, esta última por possuir cargas mais negativas leva a uma diferença elétrica entre as camadas (Fig. 2.5).

Já as proteínas periféricas ou extrínsecas concentram-se na face citoplasmática, podendo se ligar a filamentos do citoesqueleto. E na face externa o glicocálice aparece nas extremidades de proteínas integrais.

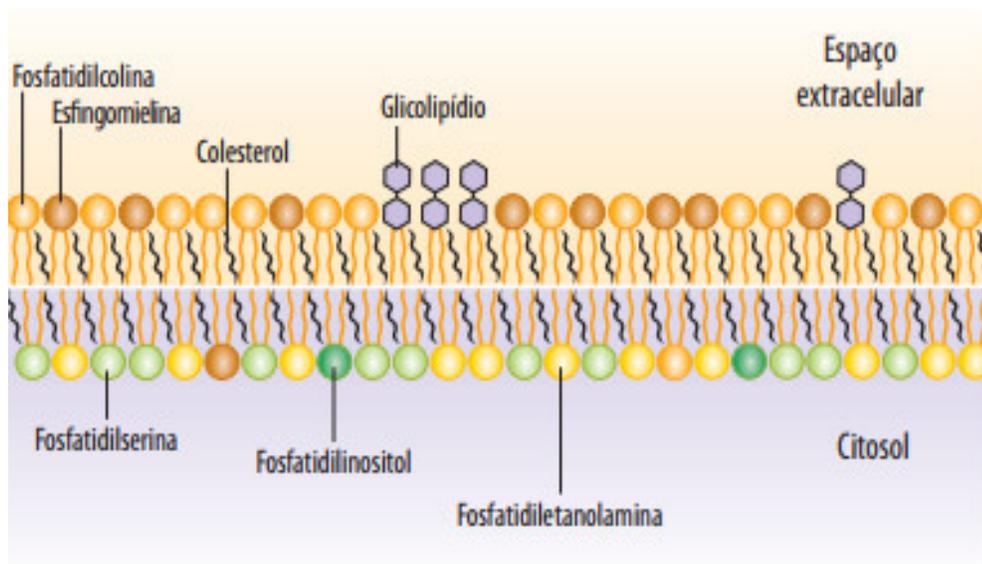


Fig. 2.5- Assimetria na distribuição dos lipídios nas duas faces da bicamada. Modificada do Alberts et al.

Propriedades das Biomembranas

1- Fluidez das membranas:

É a capacidade de movimentação dos diferentes componentes na bicamada lipídica. Essa característica, dada pela presença dos lipídios, é a principal responsável pela maior parte dos fenômenos fisiológicos relacionados à membrana plasmática (Fig. 2.6).

Os movimentos realizados pelos lipídios podem ser laterais, rotacionais, de flexão, além da difusão transversal ou flip-flop (movimentação de lipídios de uma camada da membrana para a outra pela ação das **flipases**).

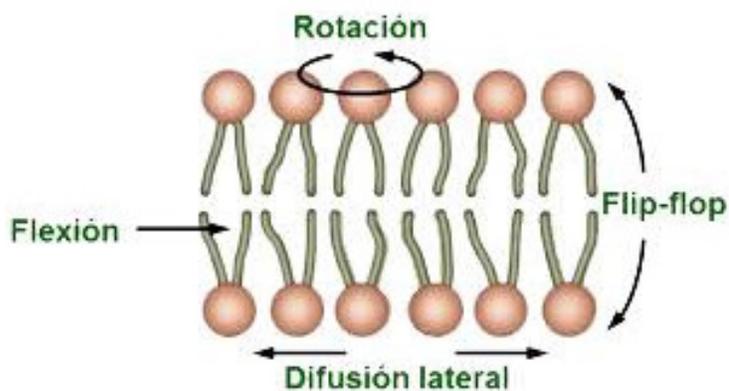


Fig. 2.6 - Movimentos de moléculas de fosfolipídios na bicamada. (Modificado de Goodman, 1998).

2.4 Por conta da fluidez da membrana têm-se movimentos nas moléculas lipídicas e proteicas. Quais são esses movimentos? O que ocasiona movimentos de flexão das cadeias de ácido graxo? Por que o movimento flip-flop é mais difícil de acontecer?

Resposta: _____

A Fluidez ajuda as proteínas a se difundirem pela bicamada e a interagirem entre si; permite a fusão ou separação de membranas; garante que as moléculas

presentes na membrana sejam distribuídas igualmente entre as células após a divisão celular; facilita a difusão e o transporte pela membrana.

Fatores que influenciam na fluidez:

- a) A presença ou não de insaturações nas cadeias dos ácidos graxos;
- b) O tamanho das cadeias carbônicas dos ácidos graxos;
- c) A temperatura ambiental;
- d) A presença de moléculas interpostas na bicamada lipídica;
- e) A dieta alimentar.

Presença de insaturações: fazem com que os ácidos graxos ocupem um maior espaço no plano da membrana, possibilitando assim uma maior movimentação dos lipídios e das proteínas. Se os ácidos graxos são saturados, a membrana tende a ficar mais viscosa e menos fluida pela diminuição desse espaço.

O tamanho das cadeias carbônicas de ácidos graxos: Uma cadeia mais curta reduz a tendência das caudas carbônicas interagirem umas com as outras e, portanto, aumenta a fluidez.

Temperatura: o estado em gel deixa a movimentação dos lipídios bastante limitada, assim a membrana fica mais rígida, viscosa, compacta e menos permeável. Já no estado líquido-cristalino, estado desejado, há uma intensa movimentação dos ácidos graxos, conferindo maior fluidez e permeabilidade.

Presença de moléculas interpostas: a presença de moléculas entre os fosfolipídios, como o **colesterol**, é capaz de interferir na fluidez e na transição de fase, pois altera o grau de compactação normal dos ácidos graxos e dificulta a movimentação destes no plano da bicamada. Assim, em uma dada temperatura, por impedir a aproximação e associação lateral, o colesterol mantém as cadeias de hidrocarbonetos dos fosfolipídios em um estado fluido intermediário entre o gel e o líquido-cristalino.

Dieta alimentar: a dieta é capaz de interferir de forma bastante acentuada na fisiologia das membranas biológicas. Os lipídios obtidos na alimentação, entre eles ácidos graxos saturados, insaturados, poliinsaturados e colesterol, são incorporados às membranas.

2.5 Qual a vantagem da membrana celular apresentar ligações insaturadas entre as estruturas apolares? Porque a denominação de mosaico fluido?

Resposta: _____

Atividade Funcional

Receptores

A sinalização celular é realizada com moléculas ligantes que são incapazes de atravessar a bicamada por serem insolúveis em lipídeos. Para isso, precisam interagir com as proteínas presentes na bicamada.

As Proteínas especializadas que reconhecem ligantes de forma específica são denominadas receptores (proteínas intrínsecas). Elas apresentam três domínios estruturais distintos: um domínio externo, capaz de reconhecer os diferentes ligantes, um domínio transmembrânico, composto por aminoácidos hidrofóbicos, e um domínio interno, que na maioria das vezes executa uma função sinalizadora para o interior celular liberando um segundo-mensageiro. Para que isso aconteça é necessário responder a 4 estímulos básicos (Fig. 2.7):

1 - Interação celular com hormônios. O sinal é transmitido por meio de alterações funcionais do domínio citoplasmático dos receptores, de modo a gerar reações intracelulares em cascata que alteram o comportamento celular.

2 - O receptor interage com o ligante e inicia um processo de internalização deste. Há um estrangulamento da membrana e formação de uma vesícula. A endocitose de partículas presentes do meio extracelular é um exemplo disso.

3 - O ligante, ao interagir com seu receptor, é fisicamente transportado através da bicamada lipídica. Isso ocorre no transporte de vários tipos de moléculas, principalmente íons, pelas membranas.

4 - O receptor interage de forma estável com o ligante, isso ocasiona alterações no arranjo do citoesqueleto. Esse tipo de interação ocorre nos processos de adesão célula-célula ou célula-matriz extracelular.

A maioria das moléculas sinalizadoras, como os hormônios e fatores de crescimento, apresenta-se em concentrações muito baixas. Dessa forma, os receptores presentes nas membranas apresentam uma alta afinidade em relação a eles.

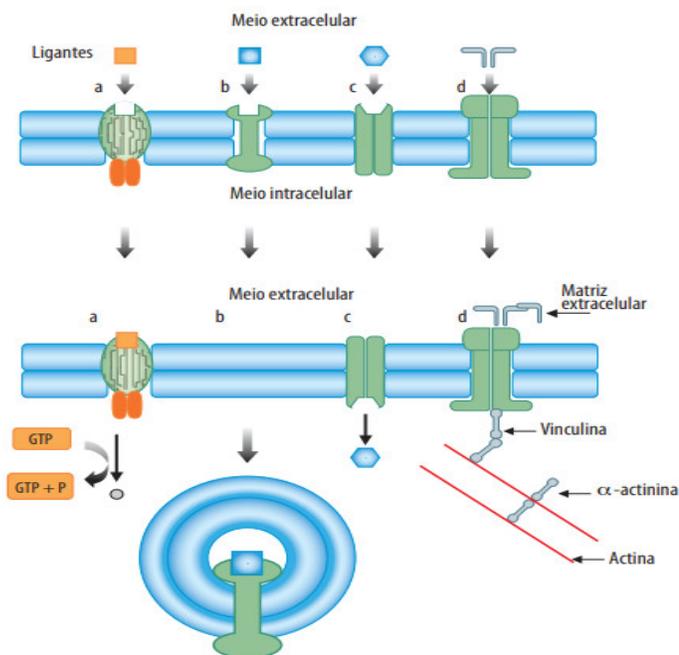


Fig. 2.7. - Funções realizadas por receptores presentes nas membranas. Em (A), interação entre ligante-receptor desencadeia um sinal que é transmitido por cascata de reações intracelulares. Em (B), o ligante interage com o receptor, há a interiorização pela invaginação da membrana e formação de uma vesícula. Em (C), o ligante interage com o receptor e é fisicamente transportado através dele. Em (D), o receptor interage de forma estável com o ligante, o que leva a alterações no arranjo do citoesqueleto. (FONTE: 'A célula' de Carvalho e Recco-Pimentel, p.129, 2010.)

As membranas lipídicas bloqueiam a passagem da maioria das moléculas polares, de moléculas apolares grandes ou moléculas carregadas eletricamente. Essa barreira permite à célula manter diferentes concentrações de solutos no citoplasma em relação ao fluido extracelular. O transporte é feito através de proteínas transportadoras de membrana, que atravessam a bicamada lipídica e formam um canal para a passagem de diferentes moléculas, permitindo, assim, a passagem de pequenas moléculas e de moléculas polares, como açúcares,

aminoácidos, nucleotídeos e metabólitos. Já a água consegue passar pela membrana diretamente pelas camadas lipídicas, apesar de ser polar, por ser bastante pequena e de baixa massa molecular.

Nas **proteínas canais** não ocorre ligação entre soluto\proteínas. O transporte é proporcional à concentração do soluto presente no meio, conferindo-lhe agilidade. Já nas proteínas que interagem com as moléculas solúveis (as **carreadoras** ou **permeases**) há alterações estruturais na proteína.

Os três tipos de transporte ativo, realizado por proteínas nas membranas, guiados por gradiente de íons são (Fig. 2.8):

- 1- **Uniporte**: transporte de uma **única molécula** em um **único sentido** pela membrana;
- 2- **Simporte**: transporte **simultaneamente** de **duas moléculas** em uma **mesma direção**;
- 3- **Antiporte**: transporte **simultaneamente** de **duas moléculas** em **direções opostas**.

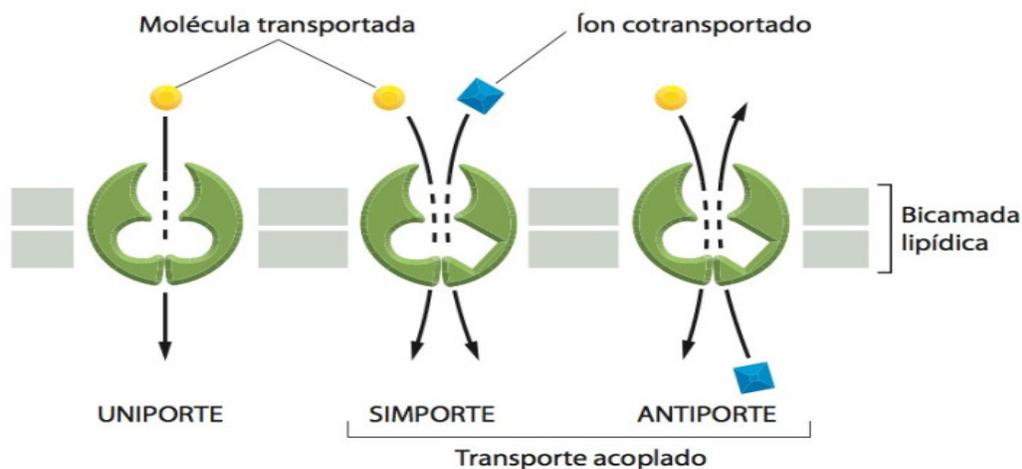


Fig. 2.8 - Tipos de Movimentos realizados por proteínas transportadora. FONTE: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.656, 2010.

2.6 De que forma os íons conseguem atravessar a membrana plasmática?

Resposta: _____

Transporte através da Membrana

Substâncias hidrofóbicas penetram com mais facilidade pela membrana plasmática, como os ácidos graxos, hormônios esteroides e anestésicos. Já as hidrofílicas irão precisar de **transporte ativo** ou **difusão facilitada**. O transporte através das biomembranas ocorre por esses dois mecanismos básicos.

Permeabilidade à Água

A membrana plasmática é muito permeável à água; em solução hipotônica há aumento do volume da célula pela penetração de água, levando à lise celular e extravasamento do seu conteúdo. Já em solução hipertônica ocorre o oposto, há diminuição do volume pela saída de água. E em soluções hipotônicas não há variação do volume.

Como mencionado anteriormente as proteínas transmembrana formam “poros funcionais”, caminhos hidrofílicos, por onde passam íons e moléculas que não conseguem atravessar a barreira lipídica.

Difusão Passiva

Facilita a entrada ou saída de moléculas. O soluto penetra na célula quando sua concentração é menor no interior celular do que no meio externo e sai da célula no caso contrário. A força que impulsiona o soluto para dentro ou para fora é a agitação térmica das moléculas de soluto. Não há gasto de energia, por ser um processo físico, ou seja, a favor de um gradiente.

Transporte Ativo

Há consumo de energia (gasto de ATP). A substância pode ser transportada de um local de baixa concentração para um de alta, sendo **transportado contra um gradiente** apenas químico (solutos não eletrolíticos), elétrico e químico (solute ionizado). Ex.: íons Na^+ do citoplasma (baixa concentração) para fora da célula (alta concentração de Na^+), devendo ver um obstáculo químico (íons Na^+), e elétrico (soma das cargas positivas de íons Na^+) o que dificulta a entrada de novos íons positivos no meio extracelular (Fig. 2.9).

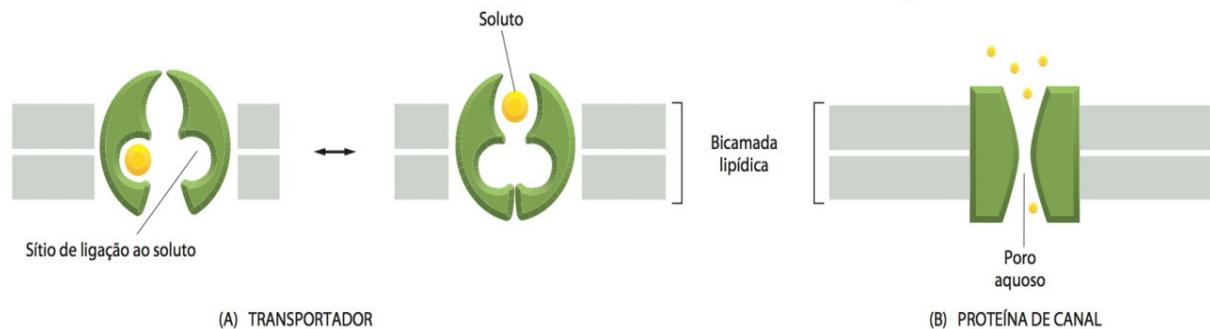


Fig. 2.9 - Proteínas transportadoras cujo sítio de ligação torna-se acessível dos lados da bicamada e de canal (A) e a proteína canal forma um poro preenchido por água através da bicamada para difundir os solutos específicos. FONTE: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.653, 2010.

Difusão Facilitada

Há a combinação da substância penetrante com uma molécula transportadora ou permease na membrana plasmática. Isso acontece sem gasto de energia, como, por exemplo, a glicose e alguns aminoácidos.

A difusão acontece a favor de um gradiente, porém em velocidade maior que a difusão passiva e não é proporcional à concentração de soluto, exceto em concentração muito baixa.

A velocidade da difusão facilitada é estérico-específica, com isso compostos isoméricos possuem velocidade de penetração muito diferentes. Elevando-se

gradativamente a concentração da molécula penetrante, chega-se a um ponto de saturação, não havendo mais aumento da velocidade de penetração. Quando todas as moléculas transportadoras estão ocupadas a velocidade de penetração não pode aumentar.

Na figura abaixo, tem-se uma comparação entre os transportes passivo e ativo. Em (A), o transporte passivo, a favor do gradiente eletroquímico, ocorre de forma espontânea, por difusão simples (pela bicamada lipídica) ou por difusão facilitada (através de canais) e transporte ativo (necessita de energia metabólica) que é sempre mediado por proteínas transportadoras que usam energia para bombear o soluto contra seu gradiente eletroquímico. Em (B), um gradiente eletroquímico combina o potencial de membrana e o gradiente de concentração, aumentando a impulsão sobre o íon através da membrana ou atuar um contra o outro (Fig. 2.10).

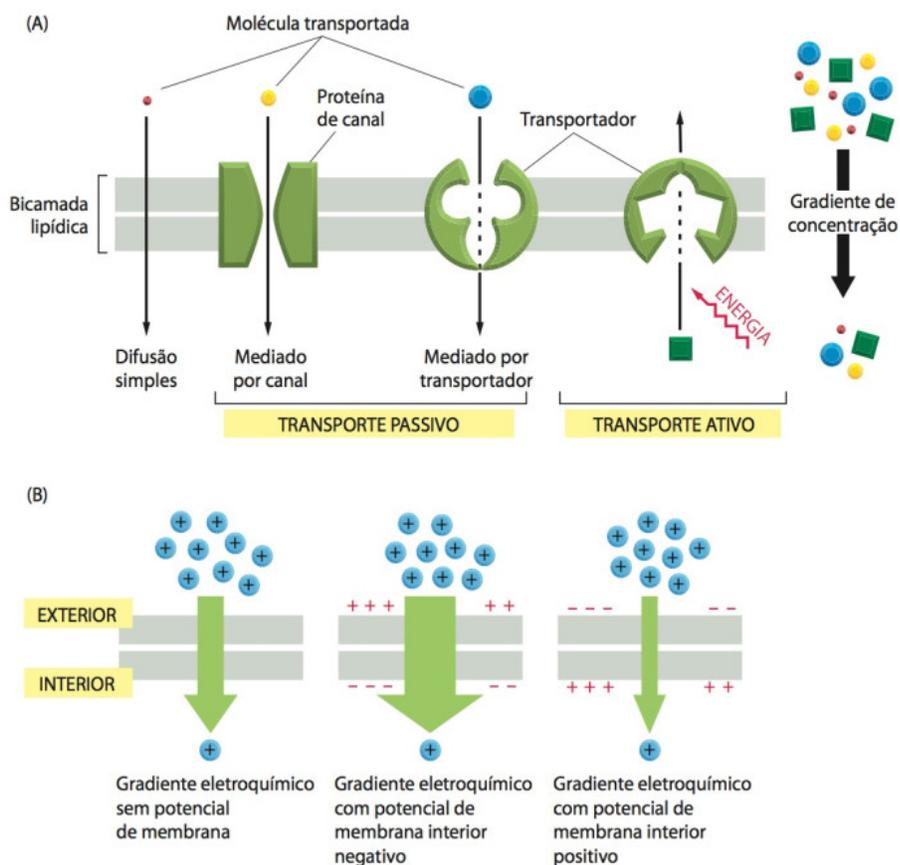
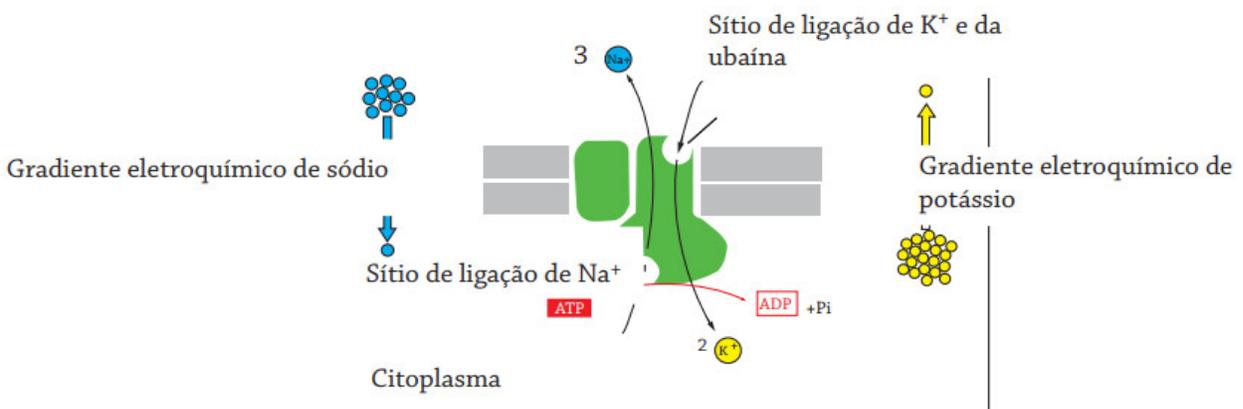


Fig. 2.10 - Fonte: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.654, 2010.

Transporte Impulsionado por Gradientes Iônicos

O transporte contra o gradiente eletroquímico (transporte ativo) requer uma mudança conformacional e gasto de energia. Algumas proteínas formam transportadores ativos que transportam solutos juntos ou em direção oposta, como acontece nas bombas de Na^+ e K^+ ou de H^+ . Esse tipo de cotransporte é realizado pelo simporte.

Na figura abaixo (2.11), há uma representação da bomba de Na^+/K^+ transportando em sentidos opostos 2 íons K^+ para o interior da célula, em contrapartida, 3 íons de Na^+ fora dela. Esse processo é importante na condução do impulso nervoso ao longo do



axônio.

Fig. 2.11 - Fonte: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.654, 2010.

Um outro exemplo é o epitélio de revestimento do intestino delgado que transporta glicose contra o gradiente de concentração existente no citoplasma ao mesmo tempo em que o Na^+ penetra. Há neste também um cotransporte com gasto de energia.

A ingestão de alimentos leva glicose para o lúmen do intestino delgado, onde é absorvida pelas células epiteliais e transferida para a corrente sanguínea. A concentração de Na^+ no citoplasma é muito baixa, assim, o transporte ativo encarrega-se por bombear Na^+ para fora das células. E como a concentração de

Na^+ é maior no lúmen do intestino, esses íons tendem a penetrar constantemente nessas células epiteliais de revestimento intestinal. A energia utilizada nesse processo realiza o cotransporte de glicose para dentro da célula contra um gradiente de glicose. Os íons de Na^+ penetram a favor de um gradiente. Neste tipo de cotransporte, a proteína transportadora possibilita o simporte, captando tanto glicose quanto Na^+ no meio extracelular (luz do intestino). Há uma modificação conformacional na molécula transportadora devido a liberação de Na^+ no citoplasma quando a sua concentração se encontra baixa, isso leva a uma perda de afinidade da membrana plasmática pela glicose. (Fig. 3. 12 e Fig. 3.13)

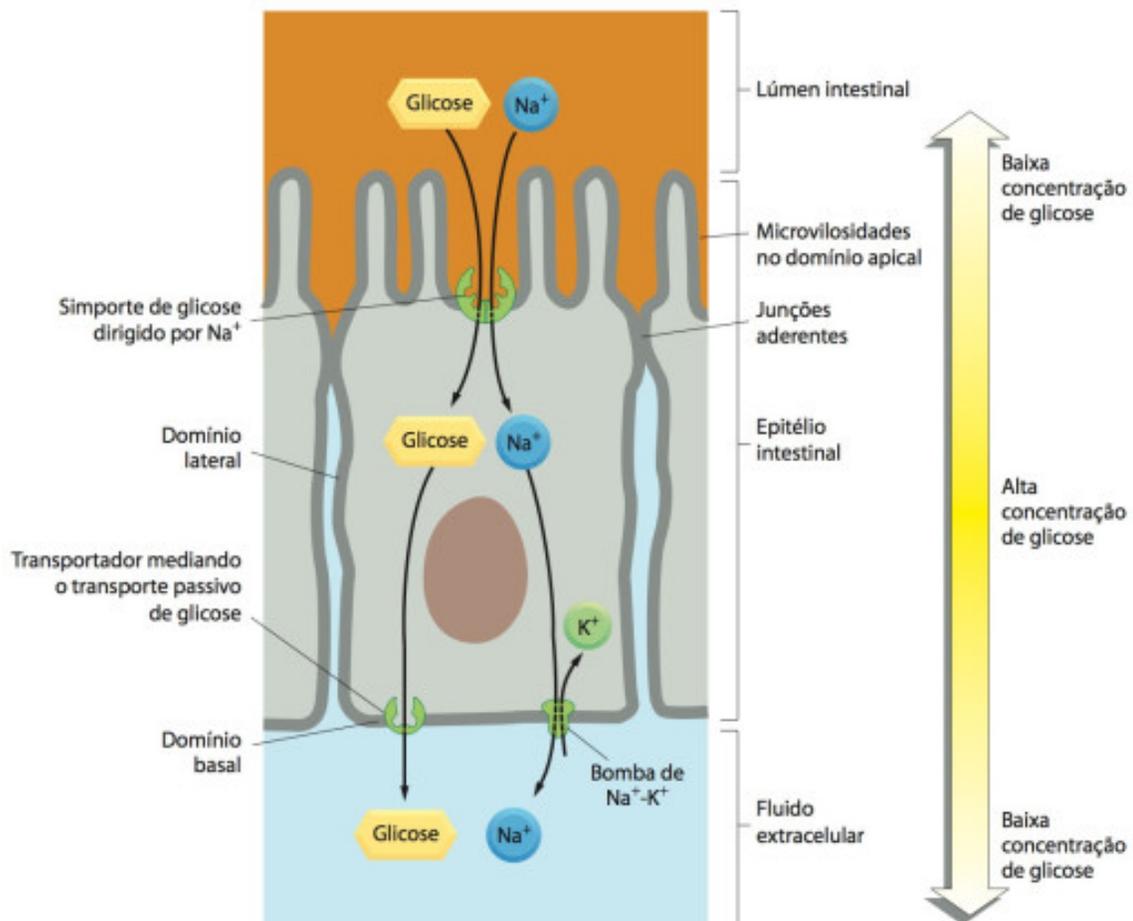


Fig. 2.12 - Transporte transcelular, FONTE: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.659, 2010.

Conforme a figura abaixo, o transportador de glicose pode ser coordenado por um gradiente de Na^+ . O transporte oscila entre dois estados alternativos A e B. Em A o estado da proteína está aberta para o espaço extracelular, no estado B, para o citoplasma. Assim, a ligação de Na^+ e de glicose é cooperativa, ou seja, a ligação de qualquer um dos ligantes induz uma mudança conformacional que aumenta bastante a afinidade da proteína pelo outro ligante. A concentração de Na^+ é maior no espaço extracelular do que no citoplasma, é mais provável que a glicose se ligue ao transportador no espaço A. Portanto, é mais frequente o Na^+ e a glicose penetrarem a célula (via uma transição A \rightarrow B). O resultado geral é o transporte líquido de Na^+ e de glicose para dentro da célula. A ligação é cooperativa, assim, se um dos dois solutos não está presente, o outro é incapaz de ligação com o transportador. Assim, o transporte sofre uma mudança conformacional alternando entre os dois estados somente se ambos os solutos, ou nenhum, estão ligados (ALBERTS, 2010).

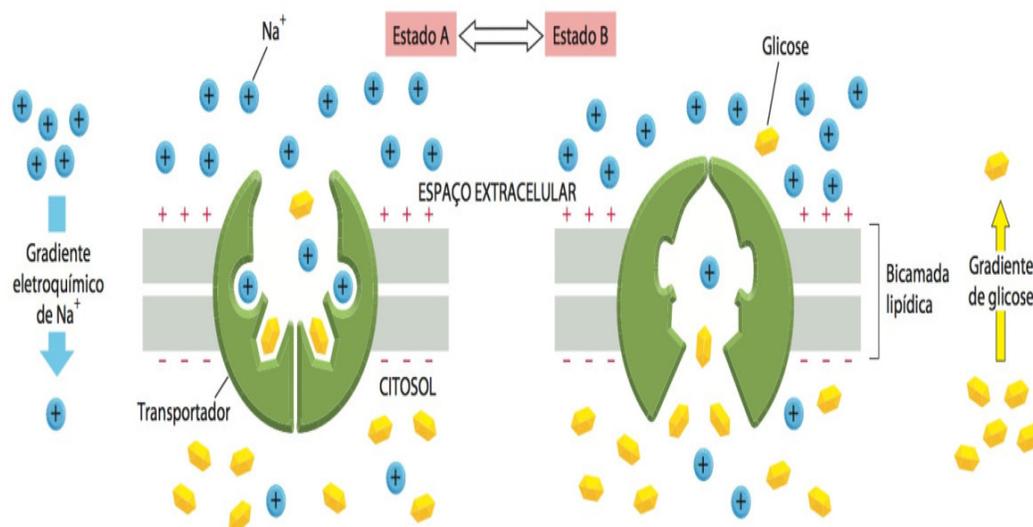


Fig. 2.13 - Transporte cooperativo entre Na^+ e a glicose. imagem retirada do livro "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.657, 2010.

Doenças Originadas por Alterações na Biomembrana

Fibrose Cística

É uma doença autossômica recessiva, com maior ocorrência em populações caucasianas. Ocorre pela composição iônica anormal no produto secretado por glândulas exócrinas; e por alteração físico-químico do muco nos dutos exócrinos e/ou cavidades corporais, levando à desidratação e morte das células epiteliais.

Essas alterações deixam o muco bastante viscoso e turbido, precipitando e obstruindo os dutos ou cavidades corporais. Isso leva a um problema pulmonar obstrutivo crônico, insuficiência pancreática, obstrução intestinal, cirrose hepática e outras complicações. Alterações patológicas incluem atrofia, dilatação, obstrução, inflamação e destruição tecidual, além da formação de tecido cicatricial fibroso.

Em cerca de 90% dos casos, a fibrose cística está associada à infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, que é a causa mais comum de morte associada à doença. O gene responsável por esta doença, localizado no cromossomo 7, codifica uma proteína intrínseca de membrana denominada CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). O defeito mais comum nessa doença é a deleção da fenilalanina da posição 508 da proteína. Além dessa mutação, mais de outros 500 tipos diferentes têm sido identificados. A função normal do CFTR é a de canal para íons cloreto, regulado por AMP cíclico (AMPC), na membrana apical das células epiteliais. Com sua alteração, tem-se a diminuição na exportação e o aumento da absorção de eletrólitos através dos canais de cloreto. Isso ocorre principalmente nos epitélios respiratórios, biliar, intestinal e pancreático.

Abaixo uma tabela com doenças relacionadas a alterações na membrana plasmática.

Tabela retirada do livro de “A célula” de Carvalho e Recco-Pimentel, p.122, 2013.

Alteração existente	Doença
Canais proteicos	
Canais de cloreto	Fibrose cística Miotonia congênita Desordens tubulares renais Síndrome de Bartter Nefrolitíase hipercalciúrica
Canais de sódio	Paralisia periódica hipoquatêmica Paramiotonia congênita Hipertermia maligna
Canais de cálcio	Paralisia periódica hipoquatêmica Hipertermia maligna Síndrome miastênica de Lambert-Eaton
Canais de potássio	Neuromiotomia Síndrome de Bartter Epilepsia neonatal benigna
Proteínas estruturais de membrana	
Distrofina	Distrofia muscular de Duchenne
PMP22	Neuropatia tomaculosa*
PLP	Doença de Pelizaeus Merzbercher*
Citocromos	
Citocromo oxidase	Miopatia infantil fatal (síndrome de Toni-Fanconi-Debre) Miopatia mitocondrial infantil benigna Esclerose polidistrófica progressiva da infância Síndrome de Leigh
Receptores de membrana	
Receptor para GABA	Não tolerância alcoólica (em ratos)
Receptores neurais nicotínicos	Epilepsia noturna do lobo frontal Esquizofrenia

*Neuropatias desmielinizantes hereditárias.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S. M.. **A Célula**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2013.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J; **Histologia Básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SUSAN STANDRING. **Gray's, Anatomia**. - Rio de Janeiro

: Elsevier, 2010.

QUESTÕES:

1) Explique por que as membranas celulares são cruciais para a vida da célula.

2) Faça um desenho esquemático com legenda de um pequeno seguimento de membrana

3) No que se refere a bicamada lipídica, escreva (V) para as proposições verdadeiras, e (F) para as falsas.

() A bicamada lipídica é formada espontaneamente devido a natureza anfifílica das moléculas.

() As moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas interagem de modo diferente com a água.

() A fluidez de uma membrana (bicamada lipídica) depende de sua composição, porém a temperatura em nada interfere.

() O flip flop é uma forma frequente e rápida que as moléculas lipídicas utilizam para se movimentar, pois esse

movimento é simples de ser executado. Cite pelo menos duas maneiras que uma proteína de membrana se associa a bicamada lipídica

4) O que é Glicocálice? Cite uma função.

5) Cite elementos que se difundem livremente pelas membranas biológicas.

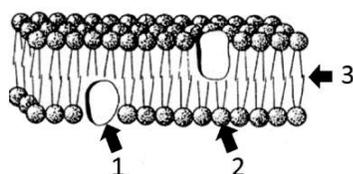
6) Cite os elementos que não atravessam livremente as biomembranas. Como eles atravessam as membranas?

7) Quais os tipos de transporte passivo?

8) Quais os tipos de transporte ativo? Caracterize-os

Questão 10 - (UNIFOR CE/2017)

As membranas biológicas são dinâmicas e desempenham funções vitais, permitindo interação entre as células, regulam quais moléculas e íons podem entrar ou sair, caracterizando a permeabilidade seletiva. A respeito da membrana



plasmática celular esquematizada na figura abaixo e suas propriedades, julgue as afirmativas que se seguem:

I. Substâncias lipossolúveis atravessam a membrana por transporte ativo.

II. Em 2, no esquema, identificamos uma proteína transmembrana.

III. O número 3, da imagem, representa a parte hidrofóbica dos lipídios.

IV. No número 1, da figura, verificamos uma proteína globular.

V. O esquema representa o modelo mosaico fluido.

São corretas apenas as afirmações:

- a) I, II e III.
- b) II, III e IV.
- c) III, IV e V.
- d) I, II e V.
- e) II, III e V.

Questão 11 - (FPS PE/2017/)

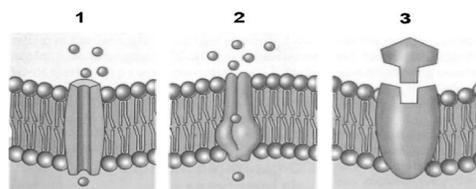
A fibrose cística é uma enfermidade que causa, dentre outros problemas, acúmulo de secreção e muco mais viscoso que o normal nos pulmões e vias respiratórias. A doença é causada por uma mutação que torna inativa

uma proteína envolvida com o bombeamento de íons cloro (Cl^-) através da membrana de células glandulares para o exterior. Assim, pode-se concluir que a fibrose cística está associada com distúrbio:

- a) nos processos de endocitose e exocitose, impedindo as células de englobar partículas alimentares.
- b) na permeabilidade celular, desequilibrando as quantidades de íons cloro dentro e fora das células.
- c) na formação do glicocálix, alterando o transporte ativo de íons através da membrana celular.
- d) na osmose celular, uma vez que o transporte ativo de água depende de proteínas da membrana celular.
- e) na síntese proteica, impedindo a difusão facilitada de sódio-potássio através da membrana celular.

Questão 12 - (PUC RS/2017/)

O modelo do mosaico fluido das membranas celulares, proposto por Singer e Nicholson, corresponde a uma bicamada lipídica com proteínas associadas.



Relacione as proteínas de membrana representadas nas figuras acima com suas respectivas funções na célula, numerando os parênteses.

() Permitem a passagem livre de certas substâncias pela membrana.

() Permitem a ligação com moléculas sinalizadoras que desencadeiam processos intracelulares.

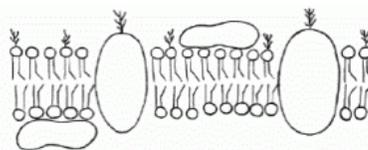
() Interagem de maneira específica com algumas moléculas e íons, carregando-os através da membrana, muitas vezes contra um gradiente de concentração.

A sequência correta que preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é

- a) 1 – 2 – 3
- b) 1 – 3 – 2
- c) 2 – 1 – 3
- d) 3 – 1 – 2
- e) 3 – 2 – 1

Questão 13 - (UEL/2006)

Membrana Plasmática: A imagem a seguir representa a estrutura molecular da membrana plasmática de uma célula animal.



Com base na imagem e nos conhecimentos sobre o tema, considere as afirmativas a seguir.

I. Os fosfolípidios têm um comportamento peculiar em relação à água: uma parte da sua molécula é hidrofílica e a outra, hidrofóbica, favorecendo a sua organização em dupla camada.

II. A fluidez atribuída às membranas celulares é decorrente da presença de fosfolípidios.

III. Na bicamada lipídica da membrana, os fosfolípidios têm a sua porção hidrofílica voltada para o interior dessa bicamada e sua porção hidrofóbica voltada para o exterior.

IV. Os fosfolípidios formam uma barreira ao redor das células, impedindo a passagem de moléculas e íons solúveis em água, que são transportados através das proteínas intrínsecas à membrana.

Estão corretas apenas as afirmativas:

- a) I e II.
- b) I e III.
- c) III e IV.
- d) I, II

14) (FIOCRUZ, 2010) De acordo com o modelo do mosaico fluído, as proteínas de membrana estão:

(A) espalhadas em uma camada contínua sobre as superfícies interna e externa da membrana.

(B) restritas à região hidrofóbica da membrana.

(C) inseridas totalmente ou parcialmente na bicamada lipídica.

(D) orientadas de forma aleatória na membrana, sem polaridade específica.

(E) livres para se soltar da membrana e serem liberadas no meio extracelular.

Capítulo 3

Junções Celulares

Franciane Pereira Brant & Roberta Barbizan Petinari

3.1 O que acontece quando a célula perde a adesividade?

Resposta: _____

Para formação de tecido biológico as células precisam se ligar com outras bem como se conectar com a matriz extracelular, essa tarefa é realizada por especializações da membrana plasmática denominadas Junções Interelulares e Junção Célula-matriz (Fig 3.1).

A membrana plasmática é a superfície que estabelece contato com outras células e com componentes estruturais da matriz extracelular. Esse contato pode desempenhar um papel predominantemente adesivo, sendo importante no controle do desenvolvimento embrionário, estabelecimento e manutenção tecidual. As Junções intercelulares também impedem a passagem de pequenos íons através do espaço entre células adjacentes, e assim mantém a diferença entre os ambientes em cada lado do epitélio. Como exemplo pode-se citar a camada epitelial do intestino, formando uma barreira com permeabilidade seletiva, entre o meio externo (conteúdo do tubo digestivo) e interno (sangue, linfa, matriz extracelular dos tecidos).

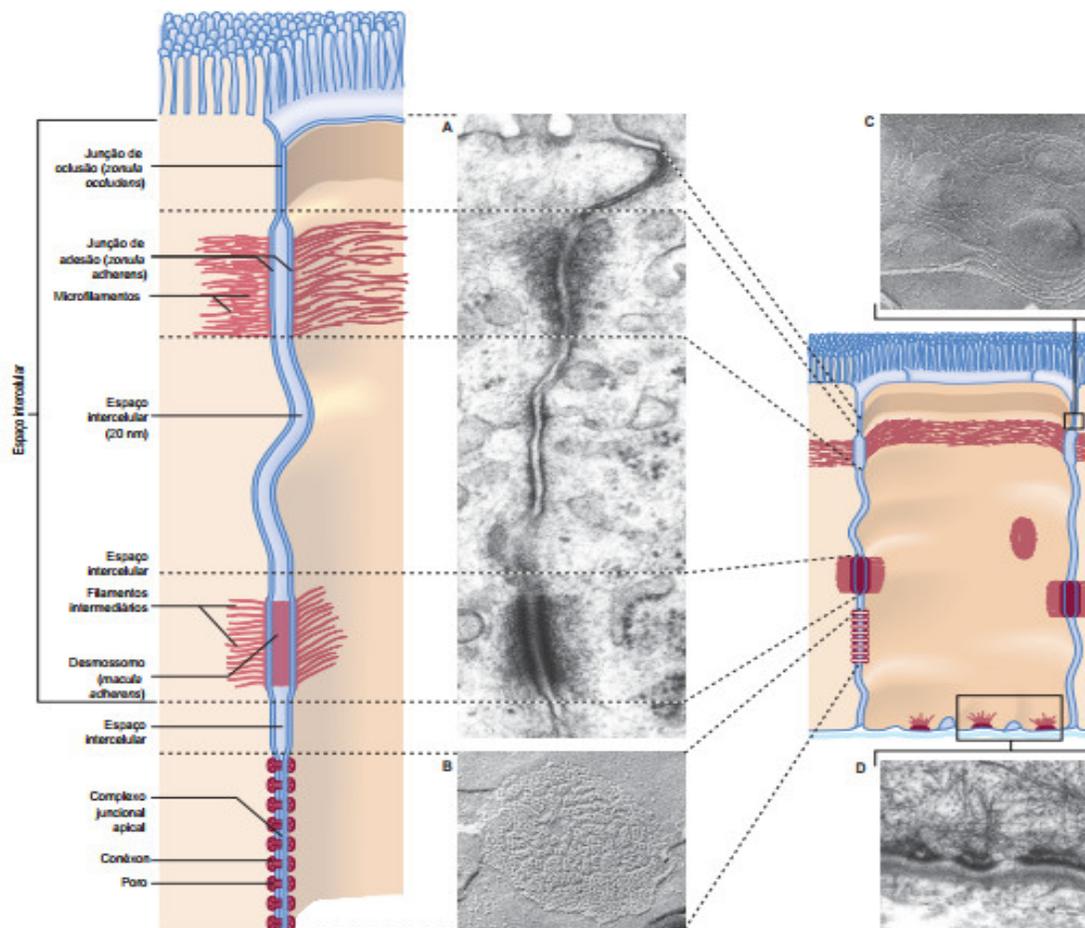


Fig. 3.1 - Junções intercelulares. As posições do complexo juncional apical e outras especializações juncionais de células epiteliais estão mostradas, junto com suas aparências em microscopia eletrônica (ver A–D; B e C são preparações de criofratura). B mostra como, em uma junção de espaço, numerosos canais (poros dentro de conéxons) são aglomerados para formar uma região juncional semelhante a uma placa entre membranas plasmáticas adjacentes. C mostra a rede anastomótica de contatos entre membranas celulares adjacentes formando uma junção íntima. D mostra as fixações da membrana plasmática basal à lâmina basal nos hemidesmosomos. (Parte B por cortesia de Professor Dieter Hülser, University of Stuttgart. Parte C por cortesia de Dr. Andrew Kent, King's College London.) A, D de tecido humano. (FONTE Gray's Anatomy, Fig. 3.4, pg. 6; 2010).

As especializações de membrana intercelular (Fig. 3.2) que promovem coesão formam o complexo unitivo composto pelas junções ou zônulas oclusivas, junções aderentes e desmossomos. Também existe especialização de membrana com a finalidade de comunicação citoplasmática, as junções comunicantes ou gap junction. As junções célula matriz extracelular compreende os hemidesmossomos e

adesão focal. As especializações de membrana são formadas por complexo de proteínas que interconectam o citoesqueleto à matriz extracelular (Fig 3.2).

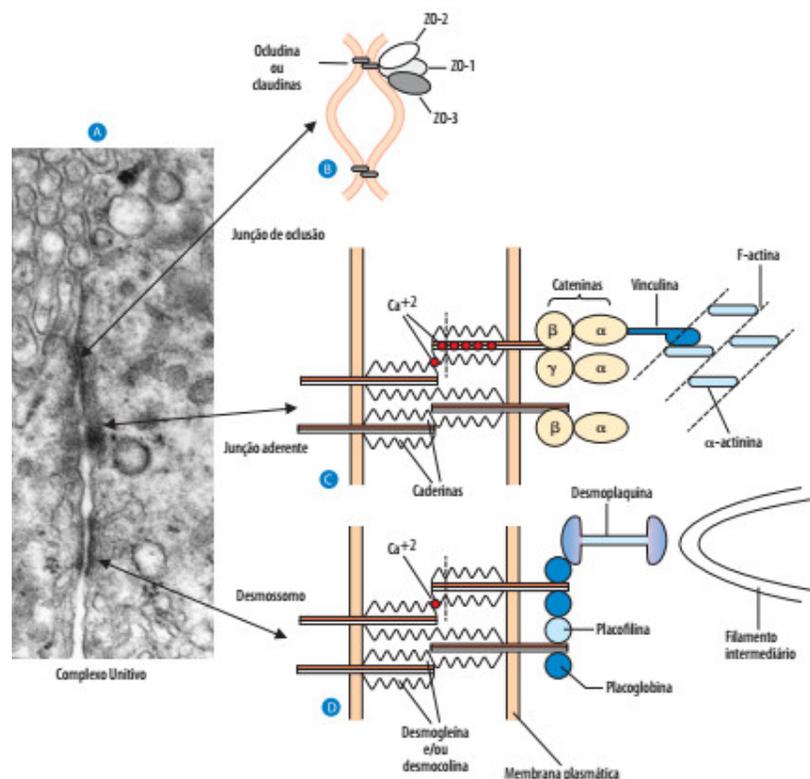


Fig. 3.2 – Diagrama mostrando modelo da composição bioquímica e interações entre as proteínas integrantes do Complexo Unitivo, formado pela junção de oclusão (B), junção aderente (C) e desmossomo (D). À esquerda, uma fotomicrografia ultraestrutural do Complexo Unitivo (A). FONTE: “A célula” de Carvalho e Recco-Pimentel, p. 158, 2013.

Moléculas de Adesão

As glicoproteínas integrais transmembrana, as CAM (Cell Adhesion Molecules), são receptores presentes na superfície da membrana responsáveis pela reconhecimento e adesão entre as células. Esse mecanismo reduz e inibe a mitose pelo contato intercelular. Dessa maneira é que os tecidos e órgãos são formados e delimitados. São vários os tipos de CAM: as IgCAM são independentes de cálcio, já as selectinas, integrinas e as caderinas são dependentes de Ca^{2+} .

As **caderinas**, encontradas na Junção Aderente, mantem a adesão intercelular em concentrações normais desse íon no meio extracelular e perdem a adesividade quando ele está em concentrações muito baixas. Diferentes tipos de células possuem diferentes membros da família das caderinas, por exemplo, N-caderinas no tecido nervoso, E-caderinas nos epitélios e P-caderinas na placenta. Estas moléculas se ligam àquelas do mesmo tipo em outras células (ligação homofílica), de tal modo que as células da mesma classe aderem umas às outras, preferencialmente formando agregados ou camadas teciduais, como nos epitélios. As **integrinas**, encontradas na junção de Adesão focal, integram interações entre a matriz e o citoesqueleto celular ao qual elas estão ligadas, e assim facilitam a migração celular dentro da matriz.

Junção de Oclusão

A junção oclusiva forma um cinturão contínuo ou zônula em volta da célula, impedindo a passagem de material pelos espaços intercelulares da camada celular. Esse cordão de vedação é composto pelas proteínas ocludinas e claudinas que promovem a eliminação do espaço entre as membranas plasmáticas de células adjacentes. Essa forma de disposição garante que as substâncias passem somente pela camada de células por difusão ou transporte nas membranas apicais e no citoplasma. Diferentes epitélios podem apresentar variações no grau de permeabilidade a íons da junção de oclusão. O epitélio vesical, por exemplo, é praticamente impermeável apresentando maior número e complexidade dos cordões de vedação, em contraste, no endotélio a junção de oclusão apresenta apenas um cordão de vedação. As células podem transitoriamente alterar a permeabilidade das suas junções de oclusão para aumentar o transporte celular passivo em algumas condições fisiopatológicas.

Além da função de barreira, a junção de oclusão também desempenha papel importante na manutenção da polaridade celular. Em epitélios, a composição da membrana plasmática apical difere daquela das regiões basolaterais, e isto permite que estas regiões se dediquem a funções como transporte direcional de íons e

captação de macromoléculas. Uma vez que as junções íntimas possuem altas concentrações de proteínas transmembrânicas fixas, elas atuam como barreiras à difusão lateral de lipídios e proteínas no interior das membranas (Fig 3.3).

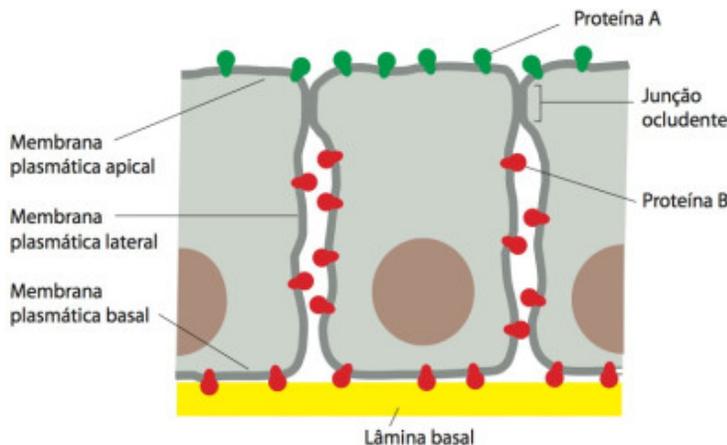


Fig. 3.3- Difusão lateral nos próprios domínios, impedidas parcialmente de entrar em outros domínios pelas junções oclusivas. FONTE: "Biologia Molecular da Célula" de Bruce Alberts, p.637, 2010.

3.2 O que ocorreria se houvesse a passagem livre de íons entre as células?

Resposta: _____

Junções Aderentes (Zônulas Aderentes)

Zônula aderente (junção intermediária) é contínua e semelhante a um cinto de adesão em torno dos limites apicais de células epiteliais, mesoteliais e endoteliais, paralelo e imediatamente basal à junção de oclusão nos epitélios. As **caderinas** são os principais componentes dessa especialização de membrana, que são sensíveis aos níveis de Ca^{2+} , elas se associam indiretamente á actina do citoesqueleto. As junções aderentes ajudam a reforçar a fixação intercelular e evitam ruptura mecânica. Além disso, elas promovem a formação e manutenção das outras junções celulares, mantêm a polaridade celular, além de estar envolvida no processo de reconhecimento celular.

3.3. Qual a semelhança entre Junções aderentes e os desmossomos?

Resposta: _____

Os Desmossomos

Os desmossomos são locais onde o citoesqueleto de uma célula se prende à de outra adjacente, formando um forte elo de ligação ou placas de contato entre si. Eles podem estar localizados em qualquer lugar na superfície celular. Em células epiteliais, eles são constituídos de queratina. (Figs.3.1 e 3. 2).

Os desmossomos formam fortes pontos de ancoragem, uma espécie de "solda", entre células sujeitas a esforço mecânico (tração) como a epiderme, do revestimento da língua e esôfago, células do músculo cardíaco.

A capacidade dos desmossomos para prender células adjacentes depende da presença de caderinas (desmogleína e desmocolina), ou seja, ele só tem poder de fixar as células quando as concentrações de Ca^{2+} estão normais no meio extracelular, em baixas concentrações dele há a separação entre as células. Com auxílio de outras proteínas, eles se associam aos filamentos intermediários do citoesqueleto. Os desmossomos desaparecem em locais com presença de células cancerígenas.

O **pênfigo** é uma doença da pele decorrente da desorganização dos desmossomos pela alteração de suas proteínas, ocasionando o afastamento das células da epiderme e consequente entrada de líquido vinda do tecido conjuntivo subjacente.

3.5 O que acontece com os desmossomos na falta de caderina?

Resposta: _____

Junções Comunicantes (Junções gap ou nexos)

Essas junções formam placas de fixação limitadas em vez de zonas contínuas, permitindo a livre passagem de substâncias dentro do espaço intercelular adjacente. Elas ocorrem em numerosos tecidos incluindo o fígado, epiderme, células das ilhotas pancreáticas, tecidos conjuntivos, músculo cardíaco e músculo liso, e em tecidos embrionários. Essa junção é formada pela interação de dois **conéxons**, cada um inserido em uma das membranas de células vizinhas, formando assim um canal transmembrânico hidrofílico que conecta ambos citoplasmas. Embora as junções comunicantes formem canais de difusão entre as células, o tamanho das suas aberturas limita a difusão a pequenas moléculas e íons. Assim elas admitem íons sódio, potássio e cálcio, vários componentes de segundos mensageiros e certo número de metabólitos, mas excluem RNA mensageiro e outras macromoléculas.

Junções comunicantes permitem cooperação metabólica entre grupos de células adjacentes, ampliando a resposta de grupos celulares a estímulos fisiológicos. Isso ocorre, por exemplo, em tecidos excitáveis como músculo cardíaco e células nervosas, onde a célula pode ativar outra eletricamente por fluxo de corrente através de junções comunicantes. As junções comunicantes podem passar de um estado de pouca permeabilidade a um estado de grande permeabilidade, abrindo e fechando a comunicação entre as células.

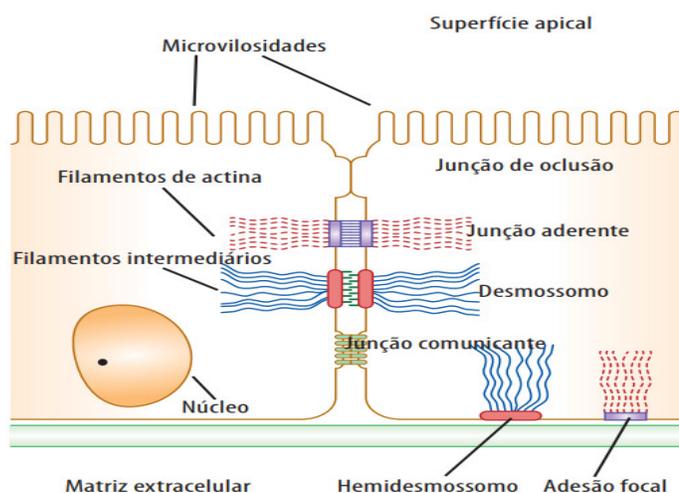


Fig. 3.4 Junções celulares em uma célula epitelial hipotética. FONTE: "A célula" de Carvalho e Recco-Pimentel, p. 158, 2013.

Hemidesmosmos

São junções de ancoragem entre as bases das células e a matriz extracelular. Assemelham a um desmossomo, porém ancorado em um só lado da membrana plasmática, e no outro à lâmina basal e fibrilas colágenas adjacentes. Os hemidesmosmos usam integrinas como suas moléculas de adesão, enquanto os desmossomos usam caderinas. O hemidesmosso garante uma estabilidade mecânica resistente e estável ao tecido.

Adesão focal

Também é composta por proteínas integrinas que são capazes de ligar aos filamentos de actina do citoesqueleto e a matriz extracelular. Essa especialização (Fig 3.4), ao contrário do hemidesmosso, é dinâmica, auxiliando na migração celular.

Doenças hereditárias relacionadas a mutações em genes que codificam proteínas das junções celulares

Tabela retirada do livro de "A célula" de Carvalho e Recco-Pimentel, p. 143, 2013.

Doença hereditária	Órgão afetado (tecido ou célula)	Gene (mutação)	Proteína (junção celular)
Hipomagnesemia familiar associada com hipercalcúria e nefrocalcinose	Rim (células epiteliais da alça de Henle)	CLDN16	Claudina 16 (junção de oclusão)
Queratoderma palmo-plantar estriada	Pele (epiderme)	DSG1	Desmogleína 1 (desmossomos)
Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito	Coração (miocárdio)	DSC2	Desmocolina 2 (desmossomos)
Surdez congênita não síndrômica	Ouvido interno (células sensoriais da cóclea)	GJB2	Conexina 26 (junção comunicante)
Neuropatia hereditária de Charcot-Marie-Tooth ligada ao cromossomo X	Nervos (células de Schwann)	GJB1	Conexina 32 (junção comunicante)
Catarata congênita nuclear	Cristalino (células da lente)	GJA3 ou GJA8	Conexinas 46 ou 50 (junção comunicante)
Epidermólise bolhosa junctional (EBJ)	Pele (queratinócitos)	COL17A1	BP180 (hemidesmosmos)
EBJ com atresia pilórica	Pele (queratinócitos)	ITGA6 e ITGB4	Integrina $\alpha 6\beta 4$ (hemidesmosmos)

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S. M.. **A Célula**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2013.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J; **Histologia Básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SUSAN STANDRING. **Gray's, Anatomia**. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

Questões:

1) O que são junções celulares e qual sua importância?

2) Cite as principais características de cada uma destas junções.

- a) Junções ocludentes
- b) Junções aderentes
- c) Desmossomos
- d) Hemidesmossomos

3) (FIOCRUZ, 2010) Sobre os desmossomos, assinale a alternativa incorreta.

(A) São semelhantes às junções aderentes, mas se ligam preferencialmente com filamentos intermediários e não com actinas.

(B) Atuam principalmente como rebites, distribuindo a força de tensão no epitélio.

(C) Estão presentes em grandes quantidades no epitélio de vertebrados.

(D) Unem a superfície basal das células epiteliais à lâmina basal subjacente.

(E) Lesões em desmossomos podem provocar vazamento dos fluidos corporais, causando inchaços severas.

Questões 4 – 6 FONTE:
<https://exercicios.brasilecola.uol.com.br/exercicio-s-biologia/exercicios-sobre-adesao-comunicacao-entre-as-celulas.htm>

4) A _____ apresenta como característica mais marcante a inserção de filamentos de actina em placas presentes no citoplasma logo abaixo à membrana da junção, garantindo, assim, maior resistência.

Marque a alternativa que contém o nome da junção intercelular que completa a frase de maneira correta.

- a) Zônula de oclusão.
- b) Zônula de adesão.
- c) Desmossomo.
- d) Junção comunicante.
- e) Junção gap.

5) As junções comunicantes (nexos) permitem o intercâmbio de moléculas entre as células. A respeito desse tipo de junção intercelular, marque a alternativa correta.

- a) As junções comunicantes ocasionam a fusão entre as membranas e a oclusão do espaço intercelular.
- b) Nos locais onde encontramos as junções comunicantes, é observada entre as células uma substância intercelular adesiva.

c) Nas junções comunicantes são encontradas estruturas que se assemelham a discos para onde convergem filamentos de queratina.

d) Nas junções comunicantes, observam-se proteínas que se organizam em torno de um poro.

6) Várias são as estruturas associadas à membrana plasmática da célula que permitem a sua adesão e comunicação com outras células. Essas estruturas especializadas são conhecidas por junções intercelulares. Marque a alternativa que indica uma junção que impede o fluxo de material pelo espaço intercelular.

a) Zônulas de oclusão.

b) Zônulas de adesão.

c) Desmossomos.

d) Junções comunicantes.

e) Junções gap.

7) (UFLA) Moléculas marcadas com um composto fluorescente são microinjetadas em uma célula epitelial. Dez minutos após a injeção, a presença dessas moléculas marcadas é detectada em células adjacentes não-injetadas. Essa observação

constitui evidência de que essas células são unidas por

A) desmossomos

B) zonas de adesão

C) interdigitações

D) microvilosidades

E) junções do tipo "gap".

Capítulo 4

Matriz Extracelular

Layde Dyana Sierau e Roberta Barbizan Petinari

4.1 Como os nutrientes chegam às células?

Resposta:

Sabemos que a célula é uma unidade viva, e que juntas elas formam órgãos e tecidos. Mas será que o corpo é composto somente de diferentes tipos celulares especializados? A resposta é não, as células necessitam de suporte. Substâncias entram e saem da célula o tempo todo, pressões são exercidas sobre órgãos, células precisam se movimentar, e todas essas funções necessitam de um substrato para que possam ocorrer. Este substrato é a **matriz extracelular (MEC)** (Fig. 4.1 e 4.2).

A MEC é **secretada pelas células adjacentes a ela**, e modulam a biomecânica, estrutura e fisiologia dos tecidos.

A matriz extracelular é composta por diversas substâncias, desde proteínas até polissacarídeos. A composição da matriz varia com a espécie, o local e o tecido onde se encontra. Dessa forma, podemos citar os condroblastos, os osteoblastos e os fibroblastos como secretores de cartilagem, matriz óssea e fibras colágenas, respectivamente. As células secretoras têm influência direta na composição da MEC, uma vez que serão secretadas somente as substâncias específicas para auxiliarem as células em suas funções. Assim, não é possível que células da córnea secretem matriz óssea, por exemplo.

Mesmo com o citoesqueleto, que confere certa resistência à célula, seria impossível a formação de órgãos resistentes – como a pele e tendões, por exemplo – sem a presença da matriz extracelular. Além de preencher espaços entre as células, ela forma estruturas resistentes, como as cartilagens, além de proporcionar

apoio físico e fornecer substrato para a movimentação de células, como no caso dos macrófagos. A MEC atua ainda na troca de substâncias entre as células e o meio e absorve pressões externas, devido à sua capacidade de se deformar quando é aplicada pressão e retornar à sua forma anterior quando a pressão é removida. A quantidade de MEC é variável de acordo com o tecido. Tecidos epiteliais, por exemplo, têm pouca matriz extracelular, ao passo que ossos e cartilagens podem ter mais matriz extracelular que células.

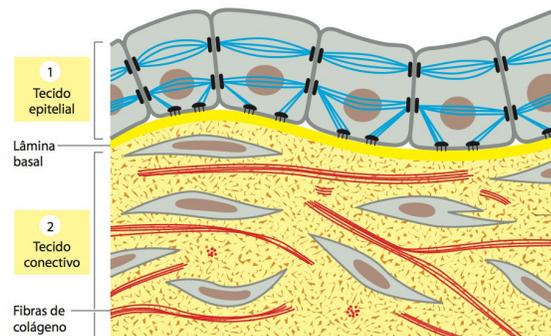


Figura 4.1 - Esquema de disposição da matriz extracelular em relação às células.

Fonte: ALBERTS et al Biologia Molecular da Célula 5ª edição p.1132

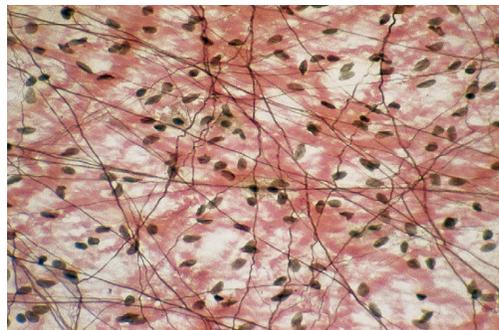


Figura 4.2 - Fibras elásticas (vistas como finas fibras escuras) em tecido do mesentério. Os feixes colágenos aparecem em róseo, e os núcleos dos fibroblastos em cinza. Fonte: Gray's Anatomia 40ª edição p.36)

Principais componentes da matriz extracelular

Os componentes da MEC são classificados como: **fibrilares, não fibrilares e microfibrilas**. Os componentes fibrilares são compostos pelos colágenos fibrilares bem como pelas fibras elásticas. Os componentes não fibrilares compreendem os proteoglicanos e o grande grupo das glicoproteínas estruturais não colagênicas. Já as microfibrilas da MEC compreendem o colágeno tipo VI e microfibrilas associadas à elastina (Fig. 4.3). Cada componente possui vários subtipos – o colágeno, por exemplo, possui 24 tipos – e cada tipo é encontrado em matrizes em locais específicos, muitas vezes em mais de um local do corpo. Também é comum se encontrar mais de um tipo do mesmo componente em uma mesma MEC.

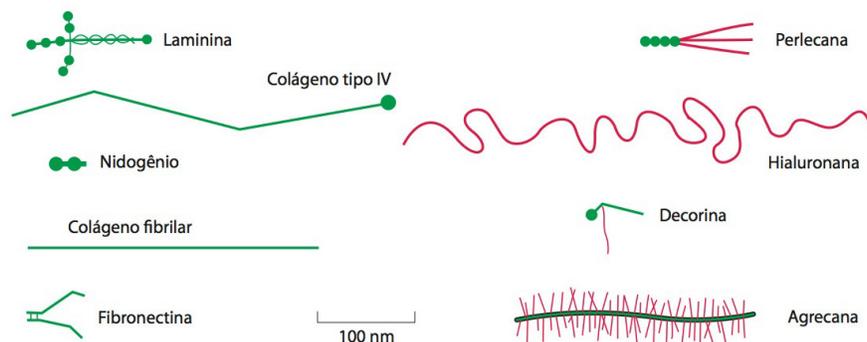


Figura 4.3 - Representação esquemática das moléculas que compõem a matriz extracelular. As proteínas são mostradas em verde e os glicosaminoglicanos em vermelho. Fonte: ALBERTS *et al* 5ª edição p.1166

Colágeno:

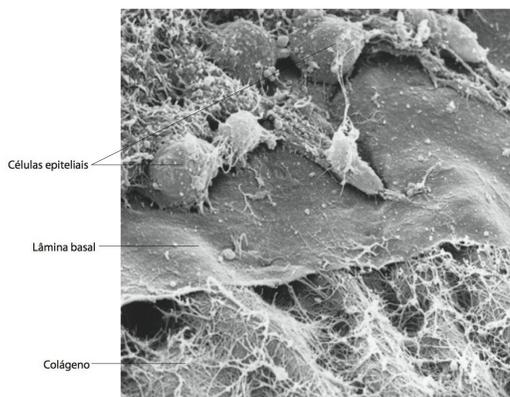


Figura 4.4 - Lâmina basal da córnea de um embrião de galinha, mostrando as camadas de matriz extracelular. Fonte: ALBERTS *et al* 5ª edição p.1165)

O **colágeno** (Fig. 4.4) é o componente mais abundante da MEC. Secretado por fibroblastos, o colágeno forma fibrilas que podem unir-se em fibras, formando estruturas resistentes à tensão e pressão, como tendões, cartilagens, meninges e cápsulas de órgãos, e ainda participam na composição das paredes internas de órgãos, sustentando o estroma. As moléculas de colágeno por meio de proteínas de adesão, como a fibronectina, podem transmitir informações às células sobre alterações físicas ou químicas que ocorrem no meio extracelular. E ainda modulam a quimiotaxia, adesão e diferenciação celulares. Juntamente com a elastina e outras proteínas, as fibras colágenas formam o sistema elástico.

Sistema elástico:

O sistema elástico é capaz de se distender e restaurar, mas sem a necessidade de contração e gasto de ATP, como ocorre nas células musculares. O sistema elástico aperfeiçoa a contração muscular, além de absorver forças de tensão e pressão. Podemos ver claramente a ação do sistema elástico quando a pele se distende de acordo com o movimento, voltando ao estado original quando este cessa. Outros exemplos da ação do sistema elástico são encontrados nas artérias e na epiglote, que se deformam com a pressão, voltando ao normal após a redução da mesma.

O sistema elástico é composto principalmente pelas proteínas **elastina** e **fibrilina**, essa última representa o principal constituinte das microfibrilas.

Proteoglicanos:

Além das fibras, a MEC é formada por elemento não fibrilar composto por glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, por exemplo) e proteoglicanos (Fig. 4.5). Os glicosaminoglicanos são carboidratos formados por uma estrutura dissacarídica repetitiva, característica para cada tipo. Os proteoglicanos são formados por uma

proteína central que está covalentemente ligada pelo menos a uma cadeia de glicosaminoglicano.

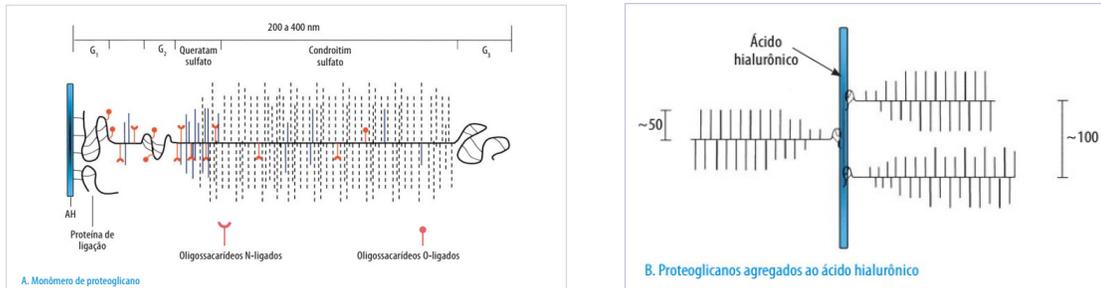


Figura 4.5: A. Representação esquemática do agregam, apontando as diferentes regiões da molécula. B. Representação esquemática do complexo ternário agregam-proteína de ligação -AH, que ocorre na formação dos grandes agregados encontrados nas cartilagens e em alguns outros tecidos.

Fonte: 'A célula' de Carvalho e Recco-Pimentel, 2ed. p.456.

Os elementos não fibrilares apresentam aspecto viscoso, exceto no tecido ósseo que é rígido. Eles são essencialmente hidrofílico, embora possa conter elementos hidrofóbicos. Essa propriedade permite que a matriz como um todo absorva água dos tecidos durante tensão ou pressão, de modo a não alterar o equilíbrio hídrico do corpo. Um bom exemplo da atuação dessa substância é o humor vítreo do olho. Por muito tempo acreditou-se que era composto essencialmente por água e eletrólitos, mas hoje sabemos que é predominado por ácido hialurônico, com poucas fibras. Isto permite a remodelação do humor aquoso, conforme os movimentos oculares, bem como a rigidez do globo ocular.

Cicatrização

4.2 Qual papel a MEC desempenha na cicatrização?

Resposta _____

Quando o tecido é lesionado – um corte de dedo, uma cirurgia, uma fratura – ou em processos inflamatórios, o corpo inicia um complexo mecanismo de reparo. A

matriz extracelular desempenha papel fundamental neste processo. Basta imaginarmos, por exemplo, o que ocorre quando cortamos o dedo. O sangramento para, o tecido interno é gradualmente repostado e, por fim, a pele é repostada, sendo o tecido morto descartado. Se o corpo produzisse somente células para realizar todo este processo, o tempo de cicatrização certamente seria muito mais longo. Sabemos que as plaquetas são responsáveis por estancar os vasos lesionados, parando assim o sangramento. Mas existe matriz extracelular em torno das plaquetas, o que permite uma rápida união das mesmas, lacrando a lesão mais rapidamente e com menor perda de células. Ademais, as células em torno da lesão passam a secretar maiores quantidades de MEC, afim de preencher as lacunas causadas pela lesão.

Matriz extracelular e patologias

Com tantas funções, certamente a malformação da matriz extracelular acarreta danos ao corpo. Essas malformações geralmente são de origem genética, comprometendo a formação de um componente da MEC, ou mesmo de parte da molécula de um componente. A mal formação pode ser de ordem nutricional. A deficiência de ácido ascórbico (vitamina C) causa danos às moléculas de colágeno, enfraquecendo as fibrilas. Como os vasos sanguíneos são ricos em colágeno, essa deficiência causa enfraquecimento dos vasos, com conseqüente sangramento, bem como dificuldade de inserção de dentes.

Existem diversas doenças causadas por falhas na expressão gênica dos componentes da matriz extracelular. Dentre elas podemos citar a *osteogênese imperfecta*, causada por falhas na expressão do colágeno. Pessoas com esta doença apresentam ossos quebradiços, pele fina, tendões fracos e perda de audição. Em casos brandos não é fatal, mas o indivíduo fica suscetível a fraturas, mesmo com traumas leves. Em casos severos, a sobrevivência é de poucos dias. Falhas ou mutações em genes de colágeno, de diversos tipos, podem causar ainda a síndrome de Alport, caracterizada por alterações na membrana basal dos glomérulos (causado hematuria) e lesões oculares e auditivas; falhas na ancoragem dos componentes da membrana basal da pele, causando bolhas e feridas após

leves injúrias, caracterizando a doença conhecida como *forma distrófica da epidermólise bulbosa*. Temos ainda a condrodisplasia metafiseal de Schimidt, que resulta em encurtamento dos membros e curvatura das pernas.

Outra doença envolvendo mutações no gene de componentes da matriz extracelular é a síndrome de Ehlers-Danlos, com cerca de dez tipos. A síndrome de Ehlers-Danlos do tipo II caracteriza-se por hiper mobilidade das articulações e hiperextensibilidade da pele, e está relacionada com mutação do gene do colágeno tipo I.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S. M.. **A Célula**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2013.

Questões:

1- O que é a matriz extracelular e quais são suas funções?

2- Quais são os principais constituintes da matriz extracelular?

3- Qual das seguintes opções é uma função da matriz extracelular?

- A) Sintetizar proteínas
- B) Armazenar a informação genética da célula
- C) Sustentar as organelas celulares
- D) Regular a diferenciação celular

4- (Fiocruz 2010) A matriz extracelular pode formar uma estrutura gelatinosa capaz de fornecer suporte mecânico aos tecidos, permitindo também a migração celular e a rápida difusão de moléculas hidrossolúveis. Esse gel hidratado pode-se formar na matriz extracelular principalmente pela presença de:

- a) Colágeno.
- b) Elastina.
- c) Fibronectina
- d) Laminina
- e) Glicosaminoglicano

5- (Inmetro 2010) Células de organismos multicelulares agrupam-se

para formar associações estruturais e funcionais. Entretanto, essas associações são constituídas de células e de uma matriz extracelular, um complexo de macromoléculas produzidas pelas células e exportadas por elas para o espaço intercelular. Com relação a esse assunto, assinale a opção correta.

- A) Nos tecidos conjuntivos de matriz especializada, as fibras colágenas têm como função resistir às forças de compressão.
- B) A deposição persistente de colágeno na matriz extracelular por estímulo imunológico impede a deformação acentuada das articulações.
- C) A matriz extracelular proporciona um arcabouço físico para a estabilização da estrutura tecidual e modula a fisiologia dos tecidos.
- D) No tecido conjuntivo mucoso, principal componente do cordão umbilical, a matriz extracelular é composta predominantemente de fibras de colágeno.
- E) As metaloproteinases são enzimas que atuam na degradação dos componentes da matriz extracelular, inibindo a migração celular necessária para o reparo tecidual.

Capítulo 5

Citoesqueleto

Layde Dyane Sierau

5.1 Para que a célula precisa de um esqueleto sendo tão pequena?

Resposta: _____

Sabemos que a célula é uma unidade viva e, portanto, realiza todas as funções das quais depende a vida. Quanto mais complexo é o organismo, mais organizadas suas células devem ser a fim de que a morfologia e as atividades vitais deste organismo ocorram de forma equilibrada.

Ao pensarmos em esqueleto – o esqueleto humano, por exemplo – deparamo-nos com termos como ossos, articulações, sustentação e movimento. Devido ao seu tamanho geralmente diminuto, pode-se supor que a célula não necessita de funções como essas. Contudo, se levarmos em consideração que a célula é composta por uma membrana delgada que envolve um material “gelatinoso” - o citoplasma, que as células precisam ter forma e localização definidas a fim de realizarem suas funções com perfeição, e que a força gravitacional, por si só, seria fator dificultante para a manutenção da forma celular, a utilidade de um esqueleto celular começa a parecer importante.

O citoesqueleto pode ser definido como uma estrutura intracelular formada por microfilamentos, filamentos intermediários e microtúbulos proteicos. Devido ao seu diminuto tamanho, o citoesqueleto está entre as estruturas celulares que não podem ser evidenciadas por técnicas histológicas e histoquímicas convencionais. Tampouco pode ser visualizado através da microscopia de luz, fazendo-se necessário a utilização de microscopia eletrônica, confocal ou de fluorescência. A

unidade de medida utilizada para o estudo do citoesqueleto é o nanômetro (nm), que equivale à milésima parte do micrômetro.

Citoesqueletos são exclusivos de células eucariontes. Contudo, há evidências de estruturas homólogas ao citoesqueleto em bactérias. Formados por proteínas similares, mas não tão complexas quanto às do citoesqueleto, estes homólogos atuam na sustentação e na divisão celular, bem como na resistência bacteriana a antibióticos.

Nas células eucariontes, o citoesqueleto é composto por uma malha microtrabecular constituída de diferentes proteínas (FIGURA 5.1). Para facilitar o estudo, os componentes do citoesqueleto são divididos em:

1. Microfilamentos ou filamentos de actina
2. Filamentos intermediários
3. Microtúbulos

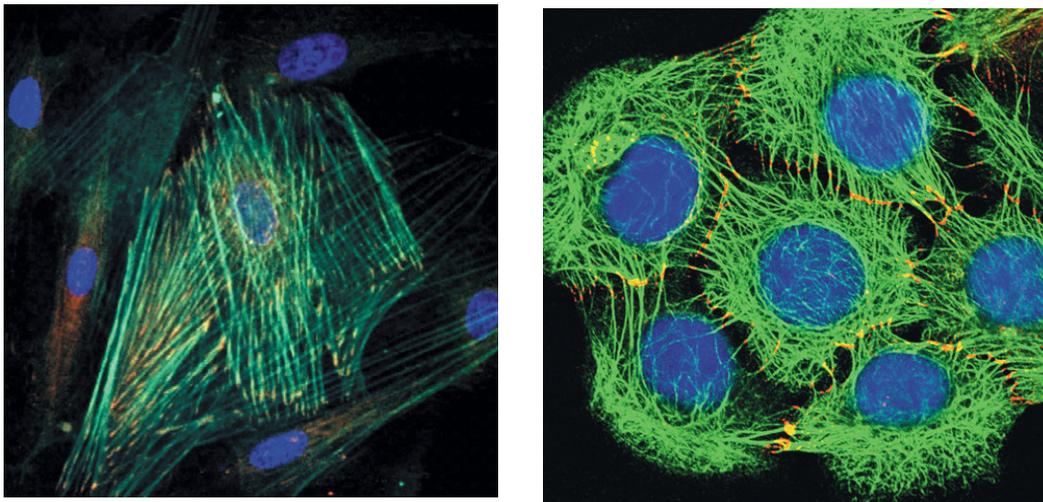


Figura 5.1 - Micrografias de imunofluorescência mostrando o citoesqueleto. À esquerda, microfilamentos de actina (verde) e da proteína associada vinculina (vermelho). À direita, filamentos intermediários (verde) e junções intercelulares (vermelho). Em ambas as imagens os núcleos são mostrados em azul. Fonte: Gray's Anatomia 40ª edição, p.14)

Além destes três principais componentes formadores, o citoesqueleto conta com inúmeras proteínas associadas aos microfilamentos e aos microtúbulos, as quais desempenham diversas funções, mas não fazem parte da constituição dos

mesmos. O número e a função de todas as proteínas existentes na espécie humana ainda não são conhecidos.

Diferentemente dos esqueletos dos vertebrados, o citoesqueleto não possui forma definitiva. Os filamentos e microtúbulos são capazes de se organizarem em diferentes conformações, dependendo da espécie, do tipo celular e da situação na qual a célula se encontra – ambiente, estresse, estado de divisão, etc. A seguir discutiremos cada componente do citoesqueleto em maiores detalhes.

1 – Microfilamentos ou filamentos finos

Formados pela proteína actina, têm diâmetro entre 6 e 8 nm. Exercem diversas funções na célula, entre elas o transporte de grânulos e organelas – com o auxílio de diversas proteínas motoras pertencentes à superfamília miosina acopladas aos microfilamentos – além de conferir forma à célula e participar da locomoção celular.

A face interna da membrana plasmática é recoberta por uma rede de microfilamentos de actina, denominada córtex de actina. Esta rede confere forma à célula e sustentação à membrana plasmática, além de contribuir com as especializações da membrana plasmática que dependem da forma da célula.

Os microfilamentos de actina não estão presentes de forma fixa no citoesqueleto. As subunidades de actina (actina G) livres no citosol são polimerizadas em microfilamentos (actina F) conforme a necessidade da célula, o que permite uma **conformação dinâmica**. Deste modo, o tamanho, a quantidade, a localização e a estrutura conformacional podem ser modificadas em pouco tempo, bastando para isso polimerizar as subunidades em microfilamentos, ou despolimerizar os microfilamentos em subunidades de actina. Contudo, essa polimerização/despolimerização ocorrem em velocidades diferentes em cada extremidade do microfilamento. Assim, temos a extremidade mais (+), onde a taxa de polimerização é maior que a despolimerização, e a extremidade menos (-), onde ocorre o oposto (Fig 5.2).

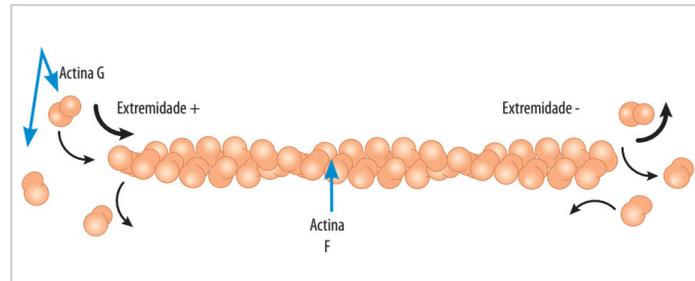


FIGURA 5.2 - A fase de equilíbrio reflete a existência de uma concentração crítica de monômeros livres, na qual velocidade de adição de monômeros é igual à de remoção. Fonte: CARVALHO, H.F. e RECCO-PIMENTEL, S.M. A Célula, 3ª edição, p.427)

Outra função dos filamentos de actina que merece destaque é a formação do anel contrátil no final do processo de divisão celular. Este anel é responsável pela citocinese, ou seja, a separação da célula em duas células filha após a mitose (FIGURA 5.3).

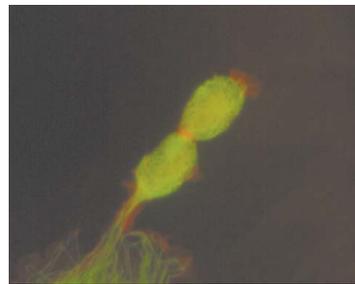


FIGURA 5.2 - Microfilamentos de actina (em vermelho) formando o anel contrátil ou de constrição (seta). Os microtúbulos aparecem em verde. Fonte: CARVALHO, H.F. e RECCO-PIMENTEL, S.M. A Célula, 3ª edição, p.432)

Os microfilamentos apresentam proteínas acessórias associadas fazendo com que os filamentos de actina se apresentem como um **feixe**, ou ainda como uma **rede** flexível por todo o citoplasma. Essa malha desempenha papel fundamental no posicionamento de moléculas no citoplasma.

Os feixes estão nas microvilosidades, junções intercelulares e sarcômeros. A proteína de maior representatividade na formação dos feixes é a miosina.

Associação de actina com miosina desempenha função de extrema importância durante a contração muscular, tanto nos músculos esqueléticos quanto na musculatura lisa, uma vez que a contração muscular é o resultado do movimento dos filamentos de miosina ao longo dos microfilamentos de actina. Este movimento

requer gasto de ATP e um mecanismo complexo de sincronização celular. Dessa forma, para que a contração ocorra perfeitamente ao longo do músculo, cada célula muscular – que é rica nestes dois tipos de filamentos – deve contrair de maneira rápida e sincronizada.

3 – Filamentos Intermediários

Estes filamentos possuem diâmetro entre 8 e 10nm. Diferentemente dos microfilamentos, eles são compostos por mais de 50 tipos de proteínas diferentes, que variam conforme o tipo celular. As proteínas constituintes dos filamentos intermediários podem ser agrupadas em 5 grandes grupos:

- a. Citoqueratinas: Presentes no citoplasma das células epiteliais;
- b. Vimentinas e proteínas associadas: Vimentina (presente nas células de origem mesenquimal), desmina (presente nas células musculares), e periferina (presentes nos neurônios);
- c. Proteínas Ácidas Fibrilares Gliais ou GFAP (em inglês): Presentes nos astrócitos e nas células de Schwann;
- d. Proteínas dos neurofilamentos: Presentes nos neurônios;
- e. Lâminas nucleares: Presentes nos núcleos das células eucarióticas.

Ao contrário dos demais componentes do citoesqueleto, os filamentos intermediários são exclusivos de organismos multicelulares, embora não estejam presentes em todos os tipos celulares (os oligodendritos, por exemplo, não possuem filamentos intermediários). Outra particularidade dos filamentos intermediários é a sua estabilidade e resistência à tração, quando comparados com outros filamentos e microtúbulos. Por esta razão, suas funções são principalmente mecânicas, mantendo a integridade e forma da célula, e ligando-se às junções entre células adjacentes, mantendo a integridade do tecido. Do mesmo modo que os microfilamentos de actina formam uma rede na face interna da membrana plasmática, os filamentos intermediários formam uma rede protetora na face interna do envoltório nuclear.

Este alto grau de resistência dos filamentos intermediários deve-se à forma de polimerização de suas proteínas componentes. Mesmo com o grande número de proteínas envolvidas na composição dos diversos filamentos intermediários, sua conformação molecular é comum a todos eles, conforme mostrado esquematicamente na FIGURA 5.4. Podemos observar a estrutura em α -hélice com porções globulares nas extremidades (A). Essas proteínas associam-se entre si, formando dímeros, caracterizados pelo “enrolamento” das regiões em α -hélice. Estes dímeros, por sua vez, associam entre si novamente, formando tetrâmeros (C), os quais são a base estrutural dos filamentos intermediários. Observando a figura, a alta resistência dos filamentos intermediários é perceptível, dado o grau de torção das proteínas, o que confere ao tetrâmero um aspecto de corda ou cabo.

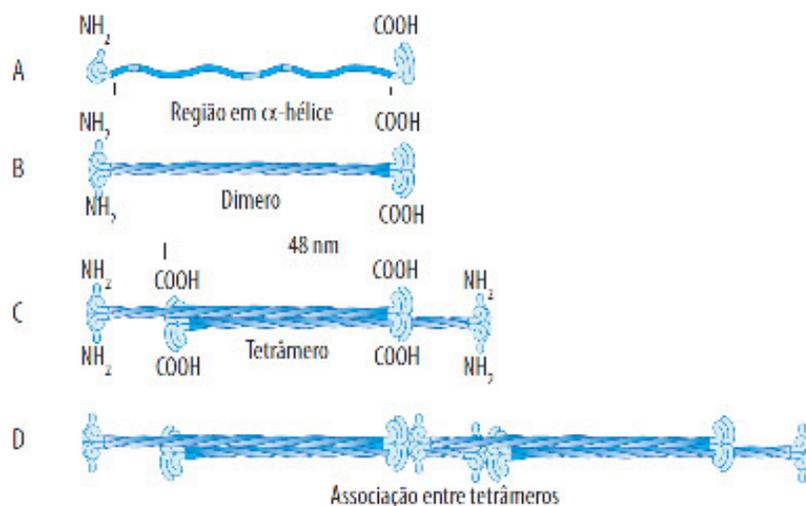


FIGURA 5.4 – Esquema da interação entre as proteínas componentes dos filamentos intermediários, mostrando a formação dos dímeros e tetrâmeros (B e C, respectivamente). Em D, observa-se a associação entre dois tetrâmeros. Fonte: CARVALHO, H.F. e RECCO-PIMENTEL, S.M. A Célula, 3ª edição, p.433)

Clinicamente, o estudo bioquímico dos filamentos intermediários tem aplicação na identificação de tumores. Isso porque as proteínas constituintes dos filamentos intermediários têm relação direta com o tecido embrionário que as originou. Sendo assim, conhecer os constituintes dos filamentos intermediários das células tumorais pode auxiliar no diagnóstico e, possivelmente, direcionar ao tratamento mais adequado.

4 – Microtúbulos

Os microtúbulos são os constituintes mais espessos do citoesqueleto, medindo cerca de 25 nm de diâmetro. São estruturas aparentemente ocas, formadas pela proteína **tubulina**. Da mesma forma que a actina, a tubulina encontra-se livre no citosol, e polimeriza para formar os microtúbulos. Contudo, a conformação da polimerização é diferente na tubulina e na actina.

A formação dos microtúbulos inicia-se a partir de **centros organizadores**, de onde a tubulina inicia a polimerização para formar o microtúbulo cuja disposição na célula dependerá da necessidade da mesma. Nas células animais, o principal centro organizador de microtúbulos é o **centrossomo**, geralmente localizado próximo ao núcleo. Os microtúbulos também possuem atividades distintas em suas extremidades. A extremidade menos (-) fica ancorada no centrossomo, e a taxa de despolimerização é maior nesta extremidade, ao passo que a extremidade mais (+) cresce em direção à membrana, sendo a taxa de polimerização maior nesta extremidade (FIGURA 5.5).

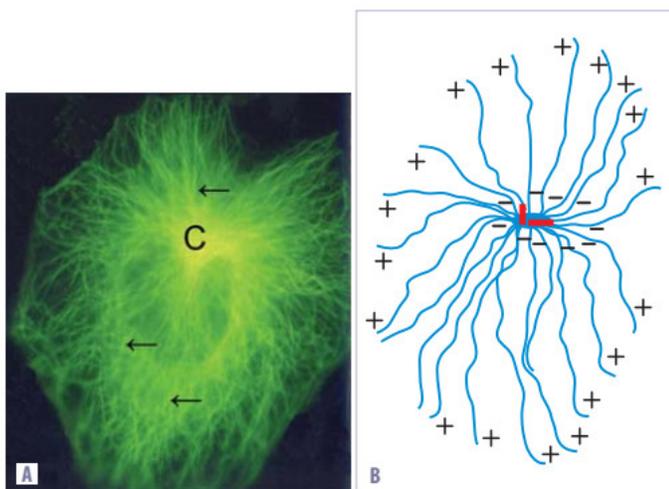


Figura 5.5. A. Distribuição dos microtúbulos em uma célula em cultura, em que podem ser observados os microtúbulos (setas) associados ao centrossomo (C). B. Esquema de uma célula interfásica, mostrando os microtúbulos dispostos com suas extremidades (-) associadas ao centrossomo, no qual encontram-se os centríolos (em vermelho) e as extremidades (+) localizadas próximas à membrana plasmática. Fonte CARVALHO, H.F. e RECCO-PIMENTEL, S.M. A Célula, 3ª edição, p.439.

Assim como os microfilamentos, os microtúbulos têm **estrutura dinâmica**, podendo ser criados ou desfeitos em pouco tempo, ou ter sua direção modificada de acordo com a necessidade da célula. Devido a este dinamismo, os microtúbulos têm função de extrema importância durante a divisão celular, uma vez que são os maiores responsáveis pela formação do fuso mitótico. Esta estrutura em forma de fuso direciona as organelas e os cromossomos para as extremidades da célula durante a mitose, de forma a direcionar a divisão celular (FIGURA 5.6).

O fuso mitótico é formado somente durante a divisão celular, sendo desfeito após a citocinese. Na metáfase, três classes distintas de microtúbulos formam o fuso mitótico: Os microtúbulos do cinetocoro conectam os cromossomos ao polo do fuso; os microtúbulos interpolares mantêm unidas as metades do fuso; e os microtúbulos astrais, que interagem com o córtex celular. Observando a figura, pode-se notar facilmente que as extremidades menos (-) de todos os microtúbulos estão ancoradas nos polos do fuso. Dessa forma, os cromossomos são direcionados para cada polo pelos microtúbulos do cinetocoro, que realizam anáfase A e B, direcionando a formação do anel contrátil, que por sua vez guiará a citocinese, separando as duas células formadas.

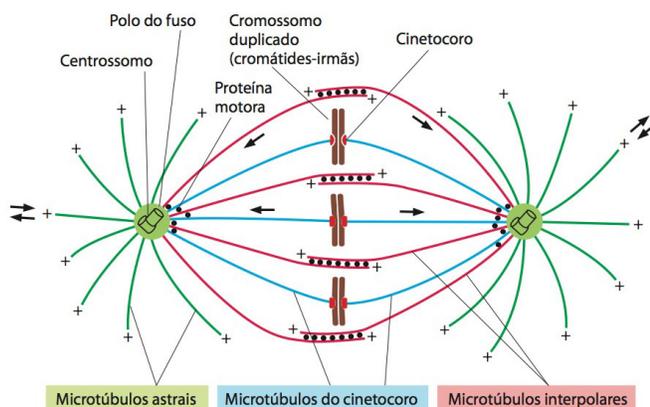


Figura 5.6 - Desenho esquemático de fuso mitótico na metáfase, mostrando os diferentes tipos de microtúbulos, bem como as extremidades mais (+) e menos (-). Fonte: ALBERTS *et al.* Biologia Molecular da Célula. 5ª edição. p.1035)

Os microtúbulos também são responsáveis pela ancoragem de organelas em locais específicos da célula, bem como do transporte das mesmas através do citosol. Para isso, os microtúbulos contam com proteínas motoras associadas a eles,

tais como as **cinesinas e dineínas**. Essas proteínas movem-se através do microtúbulo, transportando organelas ou vesículas do núcleo para a membrana ou vice-versa.

Outra função de destaque dos microtúbulos diz respeito aos movimentos celulares. Para exercer suas funções, muitas células precisam se mover sobre um substrato (como a matriz extracelular, por exemplo) ou ao longo de tecidos. Temos ainda as estruturas motrizes da célula, como cílios e flagelos. Em todos estes casos, os microtúbulos estão envolvidos, quer seja formando a estrutura motriz ou associado a outros elementos do citoesqueleto.

5.2 Diferencie sucintamente cada componente do citoesqueleto.

Resposta: _____

5.3 O que diferencia cílios e flagelos? Cite sucintamente as funções de cada um.

Resposta: _____

Movimentos Celulares e o Citoesqueleto

Como dito anteriormente, o citoesqueleto está envolvido em todos os movimentos celulares, seja movendo a célula como um todo ou formando estruturas móveis com funções específicas. Em humanos, os movimentos celulares de maior importância estão relacionados ao deslizamento dos filamentos de actina e miosina na contração muscular, aos cílios, aos flagelos e aos movimentos induzidos por fatores químicos (quimiotaxia). Contudo, podemos citar também os lamelipódios e os pseudópodes como estruturas motrizes de células.

Os neutrófilos são bons exemplos de quimiotaxia. Estas células do sistema imunológico possuem receptores que captam proteínas procariontes (de bactérias, por exemplo) em baixíssimas concentrações. Quando isso ocorre, os neutrófilos seguem para o local de detecção da proteína exógena, com o objetivo de combatê-la.

Os cílios e os flagelos são pequenos apêndices celulares que se originam nos corpúsculos basais, próximos à membrana plasmática, com um feixe de microtúbulos em seu interior, com dineínas associadas para produção do movimento. Tanto os movimentos dos cílios quando dos flagelos são dependentes de energia da hidrólise de ATP, mas estrutural e funcionalmente cílios e flagelos são bastante distintos. Em humanos, o maior exemplo da atividade de flagelos está no movimento dos espermatozoides. Cada espermatozoide conta com apenas um flagelo longo, que se movimenta de forma rápida a fim de impulsionar a célula em direção ao ovócito.

Diferentemente dos flagelos, os cílios estão presentes em maior número nas células. São mais curtos e seus movimentos mais lentos. Também observa-se sincronia nos movimentos ciliares, de modo que todos os cílios movem-se na mesma direção e sentido. Existem diversas células ciliadas no corpo humano, das quais podemos citar as células do trato respiratório, cujos cílios movimentam-se como pequenas vassouras, a fim de remover partículas do ar inspirado, de modo que estas não penetrem nos pulmões (FIGURA 5.7).

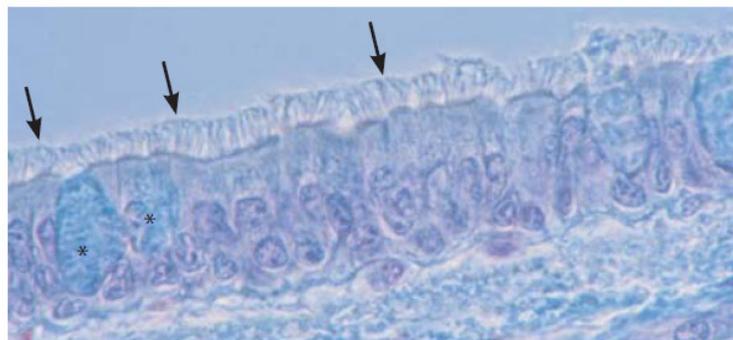


Figura 5.7 - Corte histológico da traqueia mostrando células com inúmeros cílios (setas). Fonte: CARVALHO, H.F. e RECCO-PIMENTEL, S.M. A Célula, 3ª edição, p.44

5.4 Que tipo de consequências o corpo pode sofrer caso haja problemas com os componentes do citoesqueleto?

Resposta: _____

O Citoesqueleto na Prática Clínica

Como vimos, o citoesqueleto é de suma importância para o desenvolvimento das atividades celulares. Logo, podemos inferir que qualquer desarranjo do citoesqueleto trará problemas. Diversos são os fatores que podem causar problemas ao citoesqueleto, desde a inadequada ou ausente expressão gênica de proteínas até interações farmacológicas que interfiram na polimerização de filamentos e microtúbulos.

Um exemplo de consequência é o que ocorre quando há uma mutação pontual na miosina cardíaca (FIGURA 5.8). A má formação do citoesqueleto das células cardíacas acarreta em má formação do coração como um todo, como mostrado na figura.

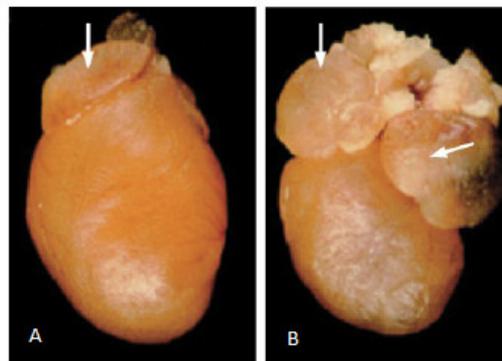


Figura 5.8 - Em A, coração normal de camundongo. Em B, coração de camundongo homocigoto para uma mutação da miosina cardíaca. No coração afetado os átrios (setas) estão hipertrofiados. Fonte: ALBERTS *et al.* Biologia Molecular da Célula. 5ª edição. p.1031.

Mutações no gene de queratina são a causa de diversas doenças genéticas humanas, em geral caracterizando-se por formação de bolhas na pele devido a estresses mecânicos leves. Isto ocorre porque, sem a queratina devidamente

organizada no citoesqueleto, a célula se rompe facilmente. Essas mutações podem ocorrer em diferentes tipos de queratinas, específicas para diversos epitélios, incluindo pele, córnea e revestimento da boca. Um exemplo desse tipo de doença é a *epidermólise bulosa simples*.

Outra patologia causada por falhas no citoesqueleto é a esclerose lateral amiotrófica, ou doença de Lou Gehrig. Esta doença neurodegenerativa está associada ao acúmulo e à montagem anormal de neurofilamentos nos neurônios motores, o que leva à degeneração dos mesmos e conseqüente fraqueza muscular e atrofia.

Defeitos na dineína ciliar são a causa da síndrome de Kartagener. Esta síndrome causa infertilidade masculina devido à deficiência na motilidade dos espermatozoides. Causa ainda problemas no trato respiratório, uma vez que os cílios que normalmente cobrem o epitélio do trato respiratório não se movimentam. Isto torna o portador mais suscetível a infecções pulmonares, já que não lhe é possível a eliminação de sujidades que penetram o trato respiratório juntamente com o ar inspirado.

Outros exemplos conhecidos de patologias cuja causa está direta ou indiretamente ligada a malformações no citoesqueleto são a síndrome dos rins policísticos, a síndrome de Wiskott-Aldrich (sistema imunológico), doença de Charcot-Marie-Tooth e Mal de Alzheimer (sistema nervoso). Vale destacar ainda outras ações de importância fisiológica que contam com importante participação do citoesqueleto, tais como a migração de células – macrófagos, neutrófilos, osteoclastos, fibroblastos, células intestinais e epiteliais, entre outras, e a morte celular pelos linfócitos T citotóxico. Neste caso, o linfócito T, após ligar-se à célula infectada, redireciona o citoesqueleto desta de forma que a morte celular é provocada pelas próprias organelas da célula infectada.

Existem diversas drogas que podem influenciar componentes do citoesqueleto, acelerando ou reduzindo a velocidade de polimerização, ou ainda tornando os microfilamentos e microtúbulos estáveis. Estas drogas são utilizadas para interromper o processo da mitose, pois impedem ou paralisam a formação do fuso mitótico. Na prática clínica, os antimitóticos são utilizados para paralisar o crescimento de tumores. Cada droga afeta componentes específicos do

citoesqueleto de forma específica. Assim, podemos citar a faloidina, a citocalasina, e a latrunculina como exemplos de drogas que atuam nos filamentos de actina. Já a colchicina, colcemida, taxol, vimblastina, vincristina e nocodazol são exemplos de drogas que atuam especificamente nos microtúbulos. Qualquer que seja a droga e sua ação no citoesqueleto, em geral o resultado é a interrupção da mitose em uma de suas fases, com a consequente morte celular.

5.5 Como a interrupção da mitose pode auxiliar no tratamento de tumores?

Resposta: _____

Capítulo 6

Retículo Endoplasmático

Leandro Petinari

Introdução:

O retículo endoplasmático (RE) é um sistema de canais revestidos por membrana interconectados dentro do citoplasma, que delimitam uma cavidade conhecida como luz ou lúmen. Estes canais assumem várias formas, incluindo cisternas (sacos achatados), túbulos e vesículas. Pode-se estruturalmente distinguir dois tipos de retículo, o Retículo Endoplasmático Rugoso (RER) e o Retículo Endoplasmático Liso (REL) (Fig. 6.2). O RER apresenta ribossomos associados as suas membranas e tem como principal função a síntese de proteínas, já o REL ou agranular é desprovido de ribossomos em sua superfície e sua função está associada com muitos processos metabólicos, incluindo destoxificação e síntese de fosfolipídios, colesterol e outros esteroides. As membranas do retículo endoplasmático liso servem como superfícies para a fixação de muitos sistemas enzimáticos, por exemplo, a enzima citocromo P450, que está envolvida em importantes mecanismos de destoxificação e fica, assim, acessível aos seus substratos, os quais geralmente são lipofílicos.

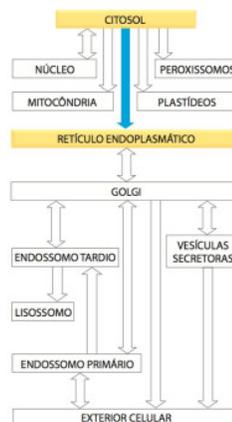


Figura 6.1 – Compartimentos celulares e suas relações com o transporte de substâncias. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 723.

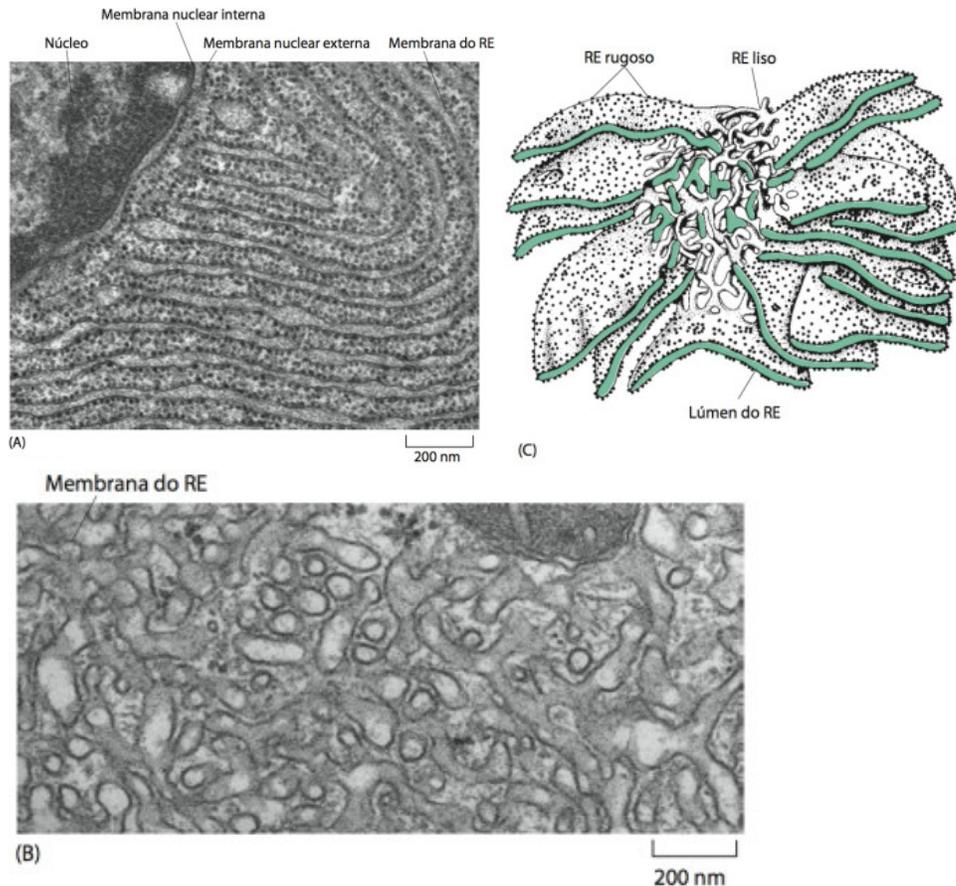


Figura 6.2 - A- Micrografia eletrônica RER de célula pancreática exócrina, evidenciando os ribossomos em sua superfície. B- Micrografia eletrônica REL em célula secretora de hormônio esteroide. C- reconstrução tridimensional de uma região do RE liso e rugoso em uma célula de fígado. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 725.

Estrutura:

Por causa da sua dimensão, a estrutura do RE só pode ser observada ao microscópio eletrônico. O RE está presente em todas as células eucarióticas e sua membrana ocupa mais da metade do conteúdo de membranas das células. A membrana do RE é contínua à membrana externa do envoltório nuclear que estão organizadas na forma de túbulos e vesículas interconectados (fig. 6.2) envolvendo o espaço interno do lúmen do RE. A luz eletrolúcida ocupa um espaço de aproximadamente 50 nm.

Retículos rugoso e liso podem estar presentes em uma mesma célula, formando uma estrutura contínua. A associação temporária dos ribossomos às membranas do RE é determinada pelo estado fisiológico da célula, ou seja, áreas de REL podem ser substituídas por RER no caso de respostas celulares que envolvem intensa síntese proteica. O inverso também pode ocorrer. Havendo a necessidade de eliminação de substâncias tóxicas, áreas de RER dos hepatócitos são substituídas por REL, com capacidade de destoxificação. Essa capacidade de intercversão demonstra que o RE é uma organela bastante dinâmica.

6.1 Os anabolizantes atuam acelerando a síntese de fibrilas musculares. Diante dessa informação, como essas substâncias agem na célula?

Resposta: _____

Composição Química:

Membranas do RE: à semelhança das demais biomembranas, as membranas do RE são formadas por uma bicamada lipídica com proteínas associadas (Tabela 1). Os lipídios presentes correspondem a 30% do seu conteúdo, sendo principalmente fosfolipídios com ácidos graxos de cadeias curtas e insaturadas. O conteúdo de colesterol e glicolipídios é baixo. Os componentes lipídicos estão dispostos assimetricamente nas membranas do RE.

Tabela 1: Comparação entre os lipídios presentes em algumas membranas celulares de hepatócitos.

Lipídios	Fosfolipídios	Colesterol	Glicolipídios	Outros
MP	57	15	6	22
CG	57	9	0	34
RE	85	5	0	10

Valores expressos em porcentagem do peso total. MP = membrana plasmática; CG = complexo de Golgi; RE = retículo endoplasmático.

Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 324.

Lúmen: A luz do RE é aquosa e de composição bastante variada, dependendo do tipo celular em questão (Tabela 2). As substâncias mais abundantes na luz correspondem aos principais produtos de secreção de cada tipo celular. Também podem ser encontradas proteínas solúveis residentes do RE, como enzimas e chaperonas, que têm função de atuar no transporte e na modificação dos produtos de secreção e lipídios aí sintetizados.

Tabela 2: Os principais produtos de secreção de uma célula são os componentes mais abundantes na luz do seu RE.

Tipo celular	Produto de secreção
Hepatócitos	Albumina, lipoproteínas, fibronectina, transferrina
Plasmócitos	Imunoglobulinas
Fibroblastos	Colágeno, fibronectina, proteoglicanos
Células β do pâncreas	Insulina
Células α do pâncreas	Glucagon
Células pancreáticas exócrinas	Tripsina, quimotripsina, amilase, DNases, RNases
Células neurosecretoras	Endorfinas, encefalinas
Célula secretora da glândula salivar	Amilase
Célula secretora da glândula mamária	Caseína, lactoalbumina

Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 325.

Aspectos Funcionais:

6.2 A síntese proteica inicia-se em ribossomos livres no citosol. Como a síntese de proteínas de secreção é direcionada ao RE?

Resposta: _____

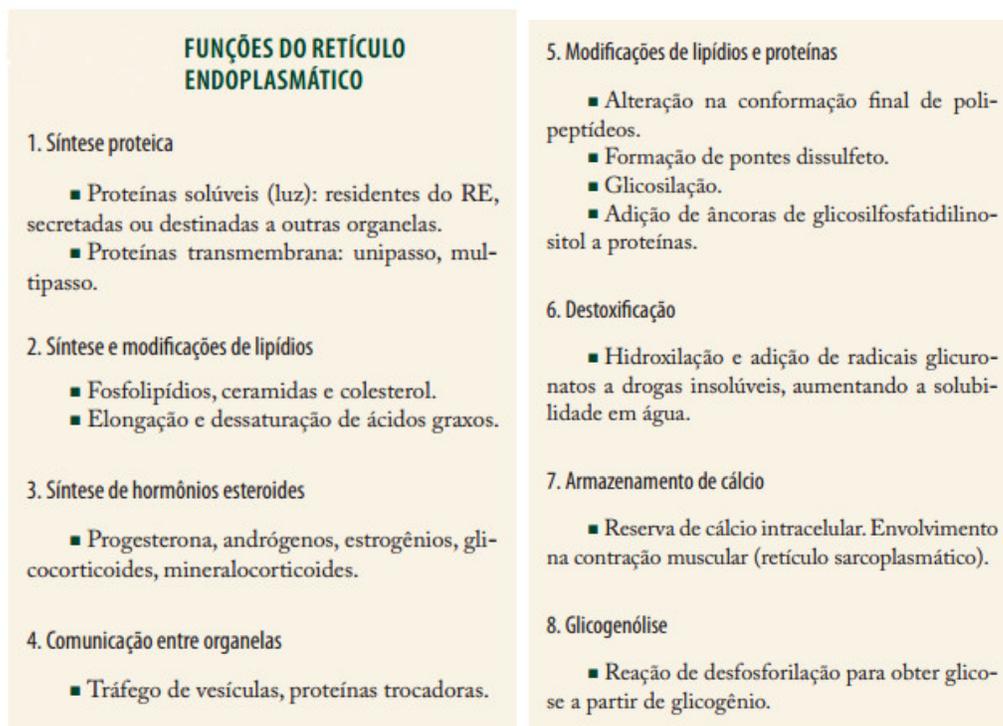


Figura 6.3 – Principais funções do Retículo Endoplasmático. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 327.

Síntese de Proteínas

Os ribossomos livres sintetizam proteínas que permanecem dentro das células, seja dentro do citoplasma ou direcionados para organelas delimitadas por uma dupla membrana, como o núcleo e as mitocôndrias. Os ribossomos ligados ao RE habitualmente sintetizam proteínas destinadas a sair da célula (Fig 6.5), ou, pelo menos, a estabelecer contato com o exterior da célula a partir de uma posição na membrana celular. Essas proteínas são divididas em três classes principais: proteínas secretoras (proteínas exportadas pela célula), proteínas lisossômicas e proteínas que se estendem pela membrana plasmática. Praticamente todas as proteínas integrais da membrana da célula, com a exceção daquelas localizadas nas membranas das mitocôndrias são formadas por ribossomos ligados ao RE.

Sequências Sinal: A síntese de proteínas destinadas a sair da célula ou a ser inseridas na membrana plasmática começa em ribossomo livre; entretanto,

pouco depois do início da síntese, ela é interrompida até que o ribossomo seja direcionado para o lado citoplasmático do retículo endoplasmático. Essa interrupção ocorre com a síntese do **peptídeo sinal** que direciona a síntese proteica ao RE. Quando o ribossomo é atracado na membrana do RE, a síntese de proteínas começa novamente. À medida que a cadeia peptídica recém-formada sai do ribossomo, ela é transportada durante a tradução através da membrana para o lúmen do retículo endoplasmático usando um complexo proteico, o **translocon**. Os ribossomos livres que estão sintetizando proteínas para uso nas células são idênticos àqueles ligados ao RE, a proteína que está sendo sintetizada, entretanto, apresenta a sequência sinal que para a síntese proteica. A sequência sinal é uma sequência de 9 a 12 resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, contendo, algumas vezes, aminoácidos de carga positiva. Essa sequência situa-se habitualmente perto da extremidade aminoterminal da cadeia polipeptídica nascente. A presença da sequência sinal identifica o peptídeo nascente como um peptídeo que precisa cruzar a membrana do RE. Algumas sequências sinal são mantidas na proteína madura, enquanto outras são clivadas por uma peptidase sinal no lado luminal da membrana do RE.

Hormônio de crescimento humano	M A T G S R T S L L L A F G L L C L P W L Q E G S A	F P T
Proinsulina humana	M A L W M R L L P L L A L L A L W G P D P A A A	F V N
Pró-albumina bovina	M K W V T F I S L L L F S S A Y S	R G V
Cadeia H de anticorpo murino	M K V L S L L Y L L T A I P H I M S	D V Q
Lisozima de galinha	M R S L L I L V L C F L P K L A A L G	K V F
Promelitina de abelha	M K F L V N V A L V F M V V Y I S Y I Y A	A P E
Proteína de cola de <i>Drosophila</i>	M K L L V V A V I A C M L I G F A D P A S G	C K D
Proteína 19 do milho <i>Zea</i>	M A A K I F C L I M L L G L S A S A A T A	S I F
Invertase de levedura	M L L O A F L F L L A G F A A K I S A	S M T
Vírus <i>influenza</i> A humano	M K A K L L V L L Y A F V A G	D Q I

Figura 6.4 - Sequências sinal aminoterminals de algumas proteínas secretoras e da membrana plasmática dos eucariotos. O cerne hidrofóbico (em amarelo) é precedido de resíduos básicos (em azul) e seguido de um sítio de clivagem (em vermelho) para a peptidase sinal. Fonte: Stryer. Bioquímica, 7ª ed., 2014, página: 1476.

Partícula de Reconhecimento de Sinal (SRP, do inglês signal recognition particle): a **partícula de reconhecimento de sinal** reconhece a sequência sinal e liga-se à sequência e ao ribossomo tão logo a sequência sinal saia do ribossomo. A

seguir, a SRP orienta o ribossomo e a sua cadeia polipeptídica nascente para a membrana do RE. A SRP liga-se a todos os ribossomos, porém liga-se firmemente apenas aos ribossomos que exibem a sequência sinal. O SRP examina os ribossomos até localizar um que exiba uma sequência sinal. Após a ligação da SRP à sequência sinal, as interações entre o ribossomo e a SRP ocupam o sítio de ligação do fator de alongamento, interrompendo, assim, a síntese de proteínas.

O receptor de SRP (SR): o complexo SRP-ribossomo difunde-se para o retículo endoplasmático, onde a SRP liga-se ao **receptor de SRP** junto ao translocon.

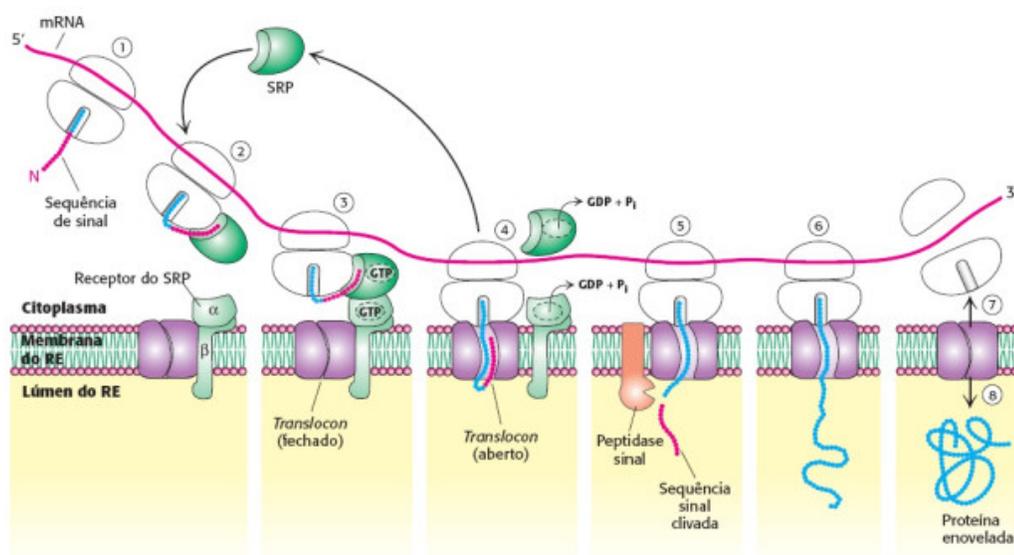


Figura 6.5 - Endereçamento do peptídeo. (1) A síntese de proteínas começa nos ribossomos livres. (2) Após a sequência sinal ter saído do ribossomo, ela é ligada pela SRP, e a síntese de proteínas é interrompida. (3) O complexo SRP-ribossomo atraca com o receptor de SRP na membrana do RE. (4) A SRP e o seu receptor hidrolisam simultaneamente os GTP ligados. A síntese de proteínas recomeça, e a SRP está livre para se ligar a outra sequência sinal. (5) A peptidase sinal pode remover a sequência sinal quando entra no lúmen do RE. (6) A síntese de proteínas continua à medida que a proteína é sintetizada diretamente no RE. (7) Com o término da síntese de proteínas, o ribossomo é liberado. (8) O túnel de proteína no translocon se fecha. Fonte: Stryer. Bioquímica, 7ª ed., 2014, página: 1478.

Transferência de proteínas transmembrana: Nem todas as proteínas sintetizadas por ribossomos associados ao RE são solúveis e têm como destino a luz dessa organela. São sintetizadas também proteínas associadas à membrana. As proteínas transmembrana apresentam segmentos hidrofóbicos inseridos na

membrana do RE na forma de α -hélice. Sua síntese segue o modelo descrito anteriormente. A inserção de um segmento hidrofóbico pode acontecer de duas formas diferentes. Por exemplo, se a proteína não possui o sítio de clivagem para o peptídeo sinal, ela interage com a membrana pelo próprio **peptídeo sinal**. Em outro exemplo, a clivagem do peptídeo sinal ocorreria normalmente, mas uma **segunda sequência hidrofóbica** na estrutura da proteína seria inserida na membrana do RE sem interferir na continuidade da síntese proteica. Nesses dois casos, acontece a inserção de apenas uma sequência hidrofóbica atravessando a membrana, formando assim as proteínas transmembrana unipasso (Fig 6.6). Entretanto, como se sabe, pode haver mais de uma sequência hidrofóbica na estrutura final de uma proteína, formando as proteínas transmembrana multipasso (Fig 6.7). O peptídeo sinal pode ou não fazer parte da estrutura final da proteína, sendo que duas ou mais sequências hidrofóbicas são inseridas uma a uma na membrana conforme a síntese prossegue.

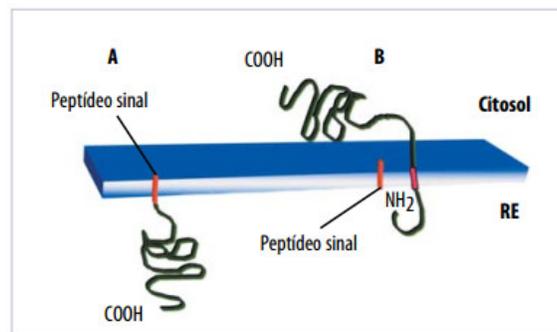


Figura 6.6 - Proteínas transmembrana unipasso. A - Representação de uma proteína, sendo a sequência hidrofóbica a própria sequência sinal. B - Nessa outra proteína, a sequência sinal foi clivada e a sequência transmembrana é uma segunda sequência hidrofóbica da estrutura da proteína. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 329.

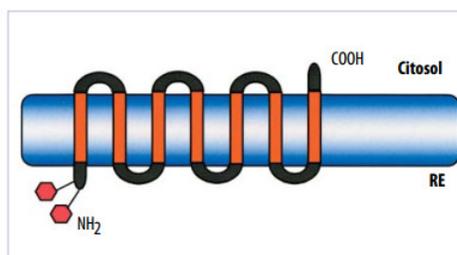


Figura 6.7 - Proteína transmembrana multipasso. Nesse esquema está representada a proteína rodopsina, presente na retina de mamíferos. Essa proteína ancora-se à membrana do RE por sete regiões hidrofóbicas (em laranja). A região aminoterminal está localizada na luz do RE, possuindo dois oligossacarídeos ligados (em rosa), e a região carboxiterminal está localizada no citoplasma. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 330.

As proteínas no interior do RE podem sofrer **glicosilação**. A glicosilação do RE ocorre em resíduos de asparagina e o grupo amino lateral da asparagina recebe um bloco inteiro de oligossacarídeos, **glicosilação N-ligada** e são direcionados ao Complexo de Golgi para modificações, como remoção e adição de oligossacarídeos. Ainda no RE podem sofrer remoção de uma manose e três oligossacarídeos.

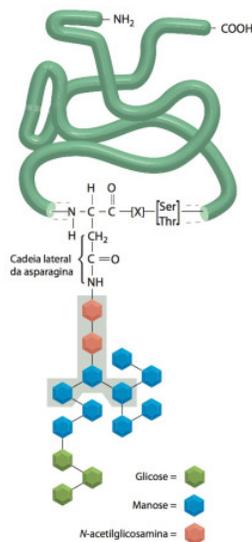


Figura 6.8 - Oligossacarídeo precursor ligado à asparagina, N-ligado. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 737.

Para que a proteína adquira sua conformação secundária ou terciária, as chaperonas (proteínas companheiras) do RE vão agir. A chaperona **BIP** (binding protein) se associa a regiões hidrofóbicas das proteínas do RE alterando a conformação inicial, permitindo assim uma nova conformação proteica.

Outro conjunto de chaperonas são as **PDIs** (protein disulfid isomerase), que permitem a formação correta de pontes dissulfeto nas proteínas da luz do RE.

Síntese de Lipídios

A maioria das bicamadas lipídicas é montada no RE, a membrana do RE sintetiza quase todas as classes de lipídios, incluindo fosfolipídios e colesterol

necessários à produção de novas membranas celulares. Como por exemplo o fosfolípido fosfatidilcolina, formado a partir da colina, de dois ácidos graxos e de glicerolfosfato. Primeiramente, dois ácidos graxos são ligados a um glicerolfosfato, produzindo um ácido fosfatídico. Essa reação acontece no citoplasma e é catalisada por uma aciltransferase ligada à membrana do RE. O ácido fosfatídico é um composto anfipático compatível com a bicamada lipídica em que é inserido. Na primeira etapa, que é comum para os diferentes fosfolípidos sintetizados, acontece o crescimento da face citoplasmática da membrana do RE, na qual se encontram as enzimas responsáveis pela síntese dos fosfolípidos. Na segunda fase, acontece a diferenciação da cabeça polar dos fosfolípidos pela inserção de inositol, serina, etanolamina ou colina, formando diferentes fosfolípidos (Fig 6.9).

Como o crescimento da bicamada lipídica ocorre na face citosólica, existem translocadores de fosfolípidos, em especial as **flipases**, que se incumbem de equilibrar a quantidade de lípidios nas duas faces da membrana. Esses translocadores atuam rapidamente, promovendo um equilíbrio quantitativo na bicamada. Entretanto, a movimentação é preferencial para alguns dos fosfolípidos, em especial a fosfatidilcolina, gerando uma assimetria qualitativa na membrana. Essa assimetria é encontrada em todos os sistemas de membranas celulares.

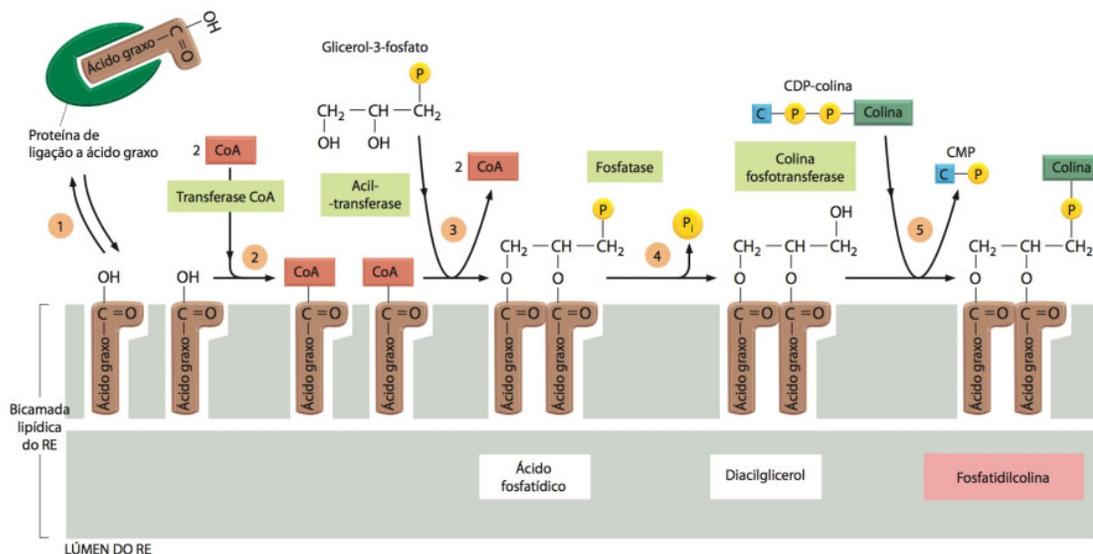


Figura 6.9 - Síntese de fosfatidilcolina na membrana do RE. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 743.

Síntese de ceramidas: ceramidas são precursoras dos glicoesfingolípides e esfingomiéline. São formadas, também pela ação da aciltransferase, pela ligação de uma esfingosina e um ácido graxo.

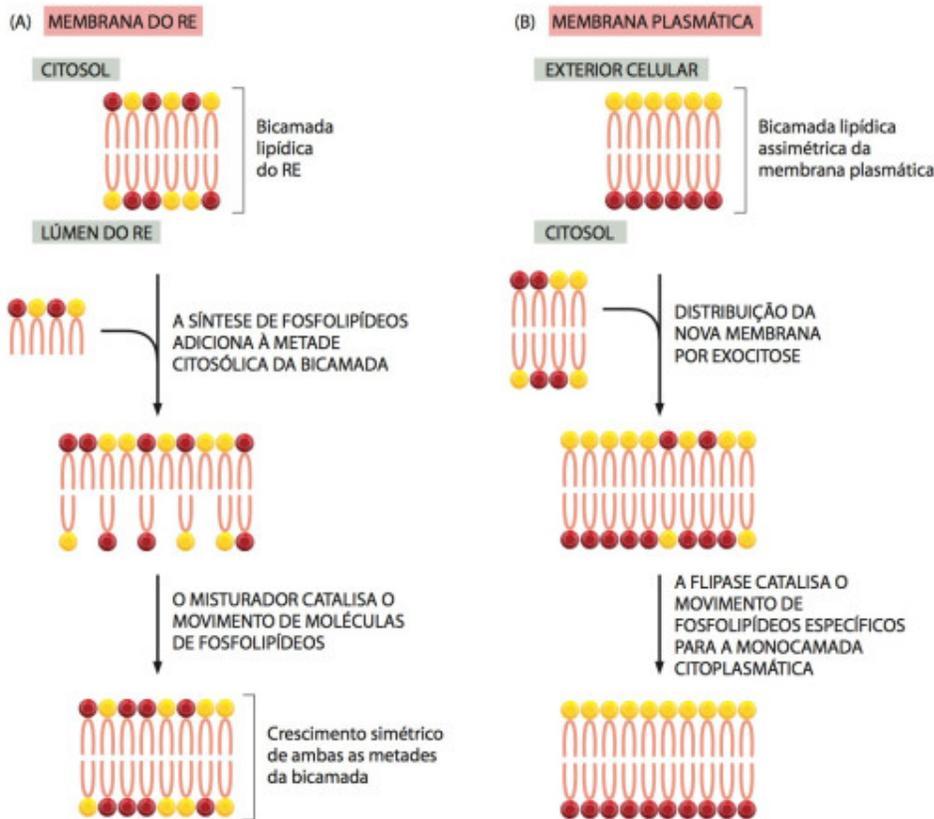


Figura 6.10 - Papel dos translocadores de fosfolípidios na síntese da bicamada lipídica. (A) uma vez que novas moléculas de lipídeos são adicionadas somente a metade citosólica da bicamada e que as novas moléculas não se movem espontaneamente de uma monocamada a outra, o translocador de fosfolípidio (misturador) é necessário para equilibrar a bicamada lipídica. (B) através de hidrólise de ATP uma flipase move ativamente a fosfatidilcerina da face extracelular para a citosólica criando assimetria característica da bicamada lipídica da membrana plasmática. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 744.

Síntese de Esteróides: O colesterol produzido nas membranas do RE é o precursor dos hormônios esteroides. A síntese desses hormônios envolve um passo intermediário que não ocorre nas membranas do RE, mas nas mitocôndrias e/ou nos peroxissomos. O colesterol sintetizado na face citoplasmática do RE é carregado por proteínas transportadoras até as membranas mitocondriais, onde acontecem reações de hidroxilação e clivagem lateral, envolvendo a cadeia transportadora de

elétrons do citocromo P450. A partir daí, forma-se um composto denominado pregnenolona. Essa deixa a membrana mitocondrial para retornar ao RE mais uma vez com o auxílio de proteínas transportadoras, necessárias para o transporte de substâncias hidrofóbicas pelo citosol. No RE, acontecem novas hidroxilações e clivagens laterais. Os produtos finais são os hormônios esteroides (progesterona, testosterona, 17-beta estradiol, glicocorticoides ou mineralocorticoides).

Destoxificação

Algumas substâncias tendem a se acumular nos organismos, podendo chegar a níveis tóxicos. Esse é o caso de alguns produtos industriais, inseticidas (como o DDT), herbicidas e desfoliantes, aditivos da indústria alimentícia e até mesmo medicamentos. Um exemplo clássico é o anestésico fenobarbital. No processo de destoxificação, uma série de reações permite que essas substâncias insolúveis em água sejam eliminadas do organismo, como as reações de oxidação envolvendo enzimas da família do citocromo P450 e reações de conjugação, que promovem a eliminação das drogas pela urina. Essas reações acontecem principalmente no fígado, mas podem também ocorrer em outros órgãos e tecidos, como intestinos, rins, pulmões e pele. Nesses órgãos, a presença das drogas ocasiona o aumento da quantidade das enzimas responsáveis pela destoxificação, bem como o aumento da área de REL, que chega a dobrar em alguns dias. Com a eliminação da droga, o REL volta às proporções iniciais por um processo de autofagocitose.

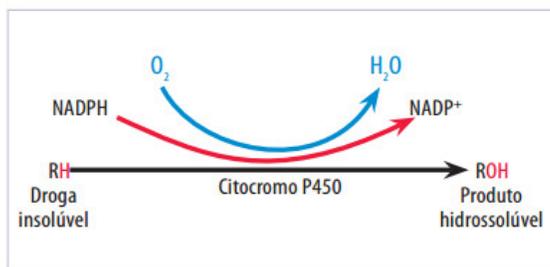


Figura 6.11 - A hidroxilação de drogas lipossolúveis permite a eliminação dos produtos pela urina. O processo de destoxificação é realizado pelo citocromo P450 e pela NADPH redutase nas membranas do REL, preferencialmente nos hepatócitos. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 333.

Reservatório de Cálcio – contração muscular

A presença de proteínas ligadoras de cálcio na luz do RE transforma a organela em um reservatório celular dessa substância. O cálcio é um mensageiro citoplasmático para uma série de eventos na maioria das células eucarióticas, como a secreção e a proliferação. Nas células musculares, complexos enzimáticos e cadeias transportadoras de elétrons presentes nas membranas do REL totalizam 90% das proteínas presentes nessa organela e atuam no transporte regulado de cálcio. Nessas células, o REL tem a denominação de **retículo sarcoplasmático**. Um experimento realizado em 1947 demonstrou que uma injeção intracelular de cálcio desencadeava a contração muscular. A partir de então, os mecanismos de controle do cálcio no citoplasma vêm sendo amplamente estudados. Normalmente, a concentração de cálcio no citoplasma é baixa, cerca de 10.000 vezes menor que no meio extracelular. Nas células musculares, um impulso nervoso é o sinal para a despolarização das membranas do RE e sua permeabilização ao cálcio, que é liberado por canais liberadores, desencadeando a contração muscular. O rápido bombeamento de cálcio de volta para o reservatório, constituído pelo retículo sarcoplasmático, auxilia no relaxamento muscular. Esse bombeamento é mediado por bombas de cálcio dependentes de ATP, de forma que a energia liberada na hidrólise do ATP impulsiona o cálcio de volta para o retículo sarcoplasmático.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. e colaboradores. **Biologia Molecular da Célula**. 5ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.

CARVALHO, H. F., RECCO-PIMENTEL, S.M., **A Célula**, 3ª Ed. Barueri, Manole, 2013.

STANDRING, S. e colaboradores, **Gray's, Anatomia**, 40ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

BERG, J. M., L. TYMOCZKO, J., STRYER, L., **Bioquímica**, 7ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014

Questões:

- Considere as afirmações abaixo e coloque V (verdadeiro) ou F (falso). Corrija as que forem falsas.

a-) O sistema de endomembranas é composto por: Retículo endoplasmático, membrana plasmática, complexo de Golgi, lisossomos e mitocôndrias ()

b-) Proteínas com sequencia-sinal ficam residente no citosol. ()

c-) O sinal de reconhecimento de partícula (SRP) está presente no retículo endoplasmático rugoso é responsável por reconhecer sequencia-sinal composta por aminoácidos hidrofóbicos. ()

d-) Proteínas hidrossolúveis são parcialmente translocadas, ficando embebidas na membrana, enquanto que proteínas transmembrana são completamente transportadas,

sendo despejadas no lúmen do RE ()

e-) Algumas modificações pós-traducionais ocorrem dentro do Retículo endoplasmático, como a glicosilação ()

Fonte:

<https://edisciplinas.usp.br/endo-membranas>

- Células Acinares pancreáticas são ricas em Retículo Endoplasmático Rugoso enquanto células de Leydig nos testículos possuem abundante Retículo Endoplasmático Liso? Por que?

Capítulo 7

Complexo Golgiense

Leandro Petinari e Roberta Barbizan Petinari

7.1 Qual a relação do Complexo Golgiense com a Reprodução?

Resposta: _____

Introdução:

As células eucarióticas apresentam organelas envoltas por membranas, a maior parte da área total dessas membranas está relacionada à organização dos compartimentos citoplasmáticos e dos mecanismos de transporte intracelular. O complexo Golgiense (CG) é uma organela citoplasmática descrita inicialmente pelo médico italiano Camilo Golgi, no ano de 1898, em neurônios e células metabolicamente ativas, a qual consiste em pilhas organizadas de compartimentos discoides chamados de cisternas de Golgi (Fig. 7.1). O CG recebe lipídios e proteínas do retículo endoplasmático (RE) e os envia a diversos destinos.

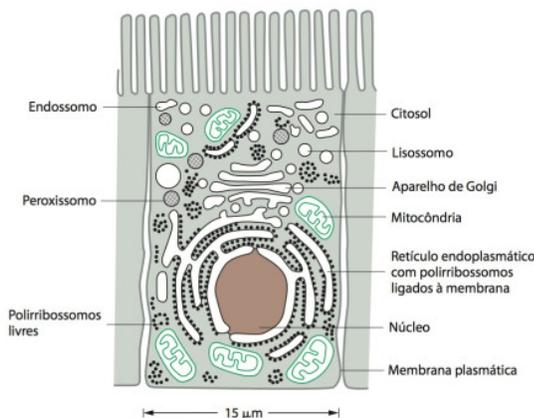


Figura 7.1 - Desenho esquemático de célula eucariótica com os principais compartimentos citoplasmáticos, notar o Complexo de Golgi (também chamado de Aparelho de Golgi) e sua relação com as demais organelas. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 696.

O CG é a segunda organela que compõem a **via biossintética secretora da célula**. Ele recebe produtos do retículo endoplasmático, modifica-os e encaminha para o exterior da célula ou pode também aproveitar essa via de secreção para direcionar alguns compostos para membrana da célula, e ainda encaminha-los para o sistema endossômico-lisossômico. A comunicação entre organelas para desempenho das funções supracitadas é mediada, principalmente por vesículas.

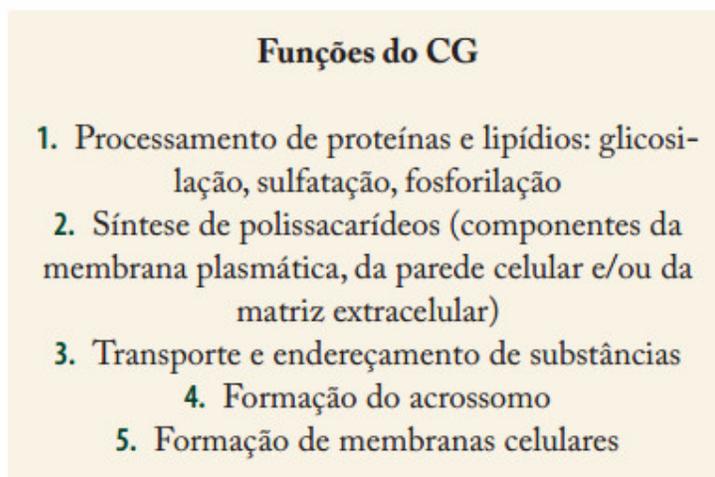


Figura 7.2 – Funções do Complexo de Golgi. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 344.

7.2 Qual a vantagem de armazenar as secreções para serem liberadas posteriormente?

Resposta: _____

Estrutura:

O complexo de Golgi apresenta alguns sáculos achatados, com espessura média de 10 nm, também chamados de cisternas, essas cisternas estão organizadas em pilhas, cada uma dessas pilhas normalmente consiste de 4 a 6 cisternas que estão ligadas por conexões tubulares entre cisternas correspondentes formando assim um único complexo (Fig. 7.3).

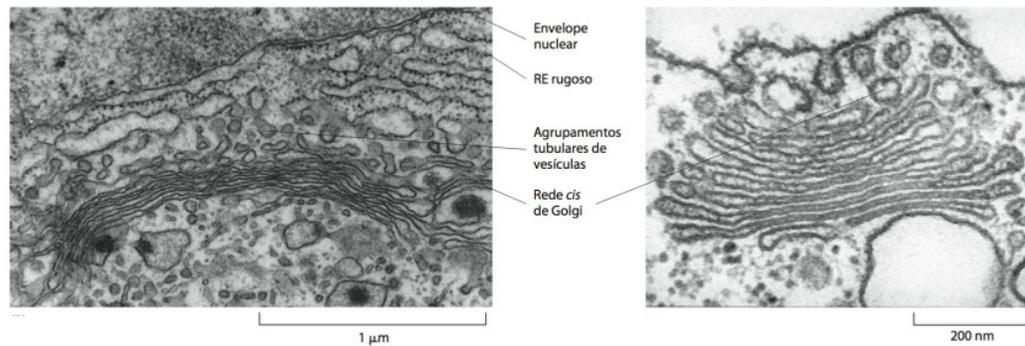


Figura 7.3 - Micrografia eletrônica mostrando a organização e estrutura das cisternas do complexo de Golgi. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 771.

Cada pilha de Golgi apresenta duas faces distintas: uma face cis (ou face de entrada) que se encontra mais próximo do retículo endoplasmático e uma face trans (face de saída), ambas as faces estão interligadas a uma rede interconectada de estruturas tubulares e de cisternas, chamadas de rede cis e trans do Golgi (Fig. 7.4 e 5).

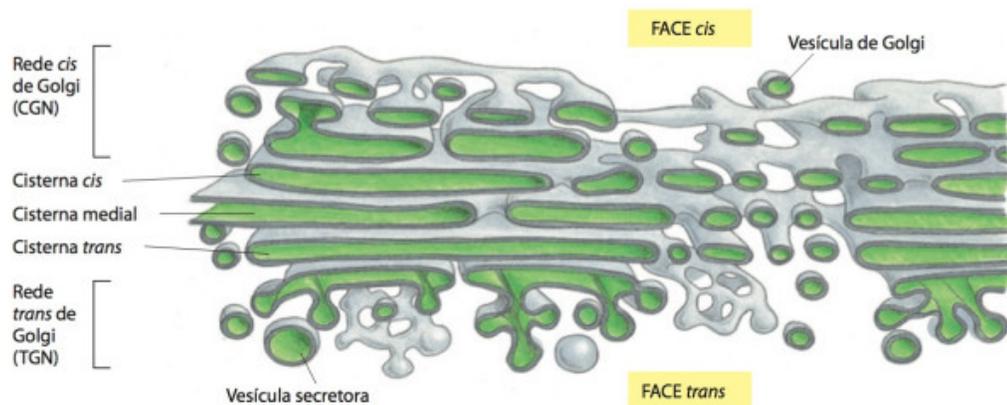


Figura 7.4 - Reconstrução tridimensional do complexo de Golgi mostrando a estrutura das faces, redes e cisternas. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 771.

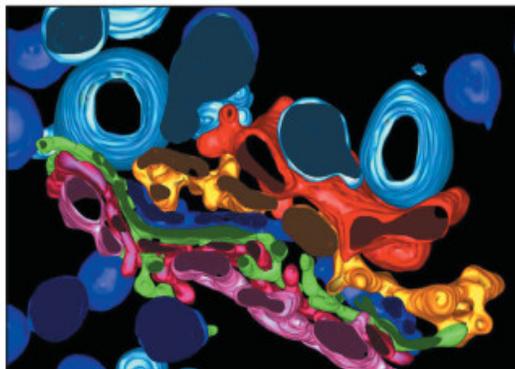


Figura 7.5 - Reconstrução tridimensional do aparelho de Golgi em uma célula beta pancreática mostrando pilhas de cisternas de Golgi a partir da face cis (rosa), cisternas cis-mediais (vermelho, verde), para a rede de Golgi trans (azul, amarelo, vermelho-laranja); grânulos de pró-insulina imatura (vesículas de condensação) mostrados em azul-claro e grânulos de insulina matura (cristalina) em azul-escuro. Fonte: Gray's, Anatomia Humana, 40ª ed., 2010, página: 11.

A localização do CG depende dos microtúbulos, se esses forem experimentalmente despolarizados, ou a desintegração que normalmente ocorre na mitose, o complexo de Golgi reorganiza-se em pilhas individuais espalhadas pelo citoplasma. O CG localiza-se próximo ao núcleo celular. Em células polarizadas, fica voltado para a face secretora das células (Fig. 7.6). Essa organela é especialmente proeminente nessas células especializadas para a secreção de glicoproteínas, como as células caliciformes do epitélio intestinal, assim a posição do CG auxilia na polarização da célula e em sua função secretora.

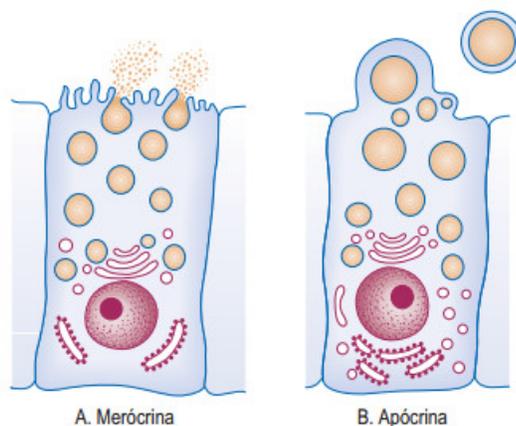


Figura 7.6 - Esquema ilustrativo da célula caliciforme com os dois mecanismos de secreção: A – merócrina, vesículas se fundem a membrana plasmática liberando o produto de secreção, B – apócrina, a célula secreta as vesículas perdendo pedaços do citoplasma. Observe a polarização celular com o núcleo na porção basal da célula e as vesículas de secreção na porção apical da célula. Note a posição supranuclear do CG auxiliando na formação das vesículas. Fonte: Gray's, Anatomia Humana, 40ª ed., 2010, página: 32.

Composição Química:

As membranas dos diferentes compartimentos do CG apresentam composição e espessura variáveis. A espessura das cisternas varia entre 5 e 10 nm. Os lipídios compreendem de 35 a 40% dos componentes das membranas do CG e estão representados principalmente por fosfolipídios, distribuídos assimetricamente na bicamada. As proteínas de membrana correspondem a 60 a 65% da bicamada lipídica, sendo representadas em sua maior parte por enzimas, proteínas estruturais e proteínas envolvidas na formação e direcionamento de vesículas. Estão presentes principalmente transferases envolvidas nas etapas de processamentos de lipídios, proteínas e polissacarídeos presentes na luz do CG, podendo ser citadas as glicosiltransferases, sulfotransferases e fosfatases. É interessante ressaltar que o conteúdo enzimático é característico para cada compartimento do CG, uma vez que as reações bioquímicas acontecem de maneira sequencial em compartimentos específicos dessa organela.

Aspectos Funcionais:

Nos diferentes compartimentos do CG, as proteínas e os lipídios provenientes do RE sofrem importantes modificações estruturais, entre as quais se destacam **glicosilação, sulfatação e fosforilação**. O processamento dessas proteínas e lipídios, que em alguns casos é iniciado ainda no RE, é fundamental para que essas moléculas desempenhem adequadamente suas funções. O CG é também um importante sítio de reconhecimento e de encaminhamento de compostos. Ele promove o endereçamento e transporte de compostos para endossomo tardio, para a membrana plasmática e também para o meio extracelular (via biossintética secretora) (transporte anterógrado) e para o RE (no caso do redirecionamento de proteínas residentes do RE) (transporte retrógrado).

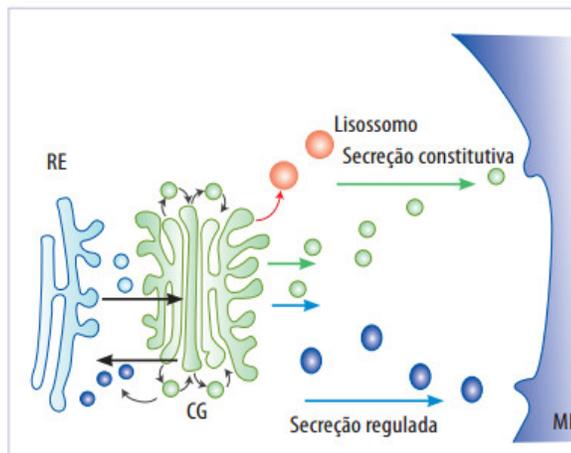


Figura 7.7 - Transporte através do complexo de Golgi. Proteínas e lipídios, sintetizados no RE, deixam essa organela em direção ao CG através de vesículas (transporte anterógrado). Proteínas residentes do RE são transportadas de volta para o RE (transporte retrógrado). O transporte entre os compartimentos do CG também acontece através de vesículas. A partir do CG, as substâncias podem seguir três destinos diferentes: lisossomos, quando possuem um resíduo de manose-6-fosfato (M6P); membrana plasmática (MP) e meio extracelular, caracterizando a secreção constitutiva; ou grânulos de secreção, onde acontece condensação e processamento de algumas substâncias até o momento da secreção (secreção regulada). A via biossintética secretora é constituída pelo transporte anterógrado: RE → CG → MP (secreção constitutiva ou regulada). Fonte: Carvalho, Fernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 341.

O CG realiza os processos de **glicosilação O-ligada** na síntese de glicoproteínas e glicolipídios. O processo de glicosilação no CG é realizado por reações sequenciais (ao contrário do que ocorre no RE, que a adição é em bloco) (Fig 7.8), sendo o produto de uma reação o substrato para o passo seguinte. As glicosiltransferases são as enzimas responsáveis pelos diferentes passos da glicosilação.

O CG realiza modificações nos oligossacarídeos N-ligados que vieram do RE. Podendo inserir algumas manoses, formando oligossacarídeos ricos em manoses e ainda, adicionar diferentes resíduos de açúcares, formando oligossacarídeos complexos.

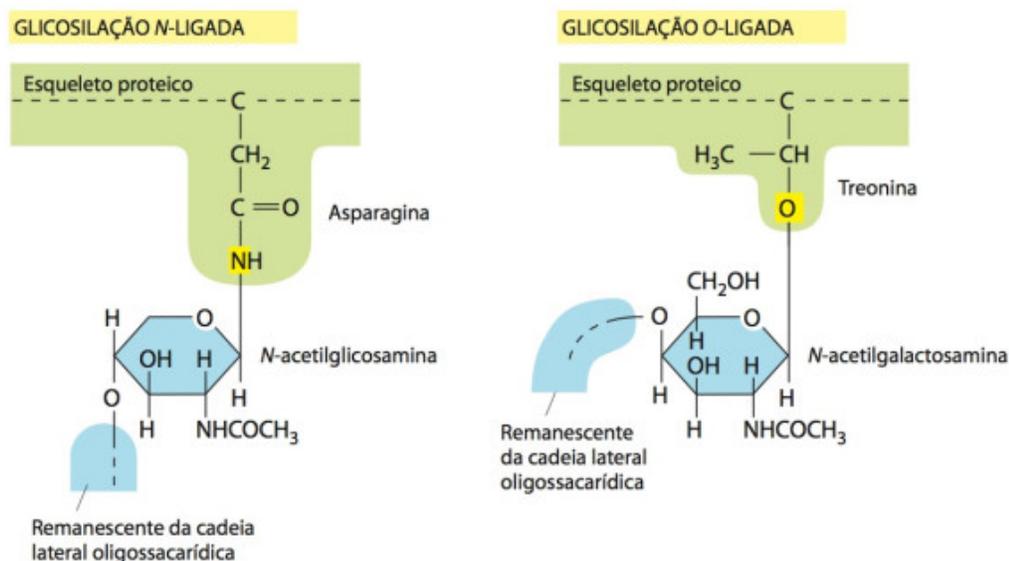


Figura 7.8 - Glicosilação N-ligada e O-ligada, em cada caso apenas um grupo açúcar adicionada a proteína está representado. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 776.

Exemplo da importância biológica que a variedade na composição de monossacarídeos pode acarretar é dado pelos antígenos do sistema sanguíneo ABO. Oligossacarídeos dos antígenos A, B e O diferem em apenas um resíduo de carboidrato. Todos eles possuem um dissacarídeo composto por fucose e galactose (antígeno O). Os oligossacarídeos do antígeno A são produzidos quando ao oligossacarídeo do tipo O é adicionada uma N-acetilgalactosamina. Por outro lado, quando o resíduo adicionado ao oligossacarídeo O é galactose, é o antígeno B que se forma. Assim, a ação de enzimas específicas sobre um substrato inicial (antígeno O) é responsável pela variação verificada nos tipos sanguíneos A, B, AB e O.

7.4 Faça uma pesquisa da frequência dos tipos sanguíneos na população. Quantas reações de glicosilação acontecerão no CG nos diferentes tipos sanguíneos?

Resposta: _____

No CG são sintetizados diferentes polissacarídeos. O principal exemplo, em animais são os glicosaminoglicanos, que são polissacarídeos lineares componentes da matriz extracelular animal caracterizados pela repetição de unidades

dissacarídicas, em geral de um ácido urônico (idurônico ou glicurônico) e de um açúcar aminado (N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina).

A **glicosilação** também pode ocorrer em lipídios, assim o CG promove a adição de oligossacarídeos nos fosfolipídios de membrana.

Outra função do CG é de adicionar carga negativa a diferentes substratos pela **sulfatação** de, por exemplo, proteínas, GAG, etc. Além da **Fosforilação** de pré-enzimas lisossomais

Transporte e endereçamento:

O CG faz parte da via biossintética secretora da célula. Nessa via, proteínas e lipídios produzidos no RE são encaminhados para a rede cis do Golgi, de onde seguem para as cisternas cis, cisternas médias, cisternas trans e rede trans do Golgi, consecutivamente. Finalmente, as moléculas em curso são secretadas para o meio extracelular, pela exocitose. Esse transporte de compostos é dito anterógrado e se contrapõe ao transporte retrógrado, responsável pela reciclagem de substâncias e pelo redirecionamento de proteínas residentes do RE ou das cisternas do CG que tenham deixado suas regiões originais. Todo o transporte retrógrado é mediado por vesículas, que brotam de um compartimento doador e se fundem à membrana de um compartimento receptor ou alvo, levando compostos de um compartimento para outro. O tráfego de moléculas do RE para o CG e deste para o endossomo tardio, para a membrana plasmática e para o meio extracelular também é realizado por vesículas.

A via biossintética secretora:

Os produtos transportados através do CG e destinados à secreção celular podem seguir dois caminhos distintos. Um deles consiste na secreção de maneira contínua e não regulada, tão logo deixem o CG. Esta é a chamada **secreção constitutiva**. Um exemplo desse tipo de secreção é a da albumina, realizada por

hepatócitos. Outros exemplos desse processo ocorrem em células que usam a via constitutiva para a renovação de sua membrana plasmática. O segundo caminho é sujeito à regulação. Nesse caso, os produtos celulares deixam a rede trans do Golgi e permanecem retidos em vesículas de secreção (ou grânulos de secreção), até que um sinal específico resulte na sua liberação. Esta é a chamada **secreção regulada** e o sinal mencionado consiste normalmente em estímulos nervosos ou hormonais. A secreção de vários hormônios, neurotransmissores e enzimas digestivas está sujeita a esse tipo de regulação. A secreção regulada representa um importante mecanismo utilizado pela célula para controlar rapidamente a expressão de várias proteínas, o que permite, muitas vezes, a adaptação, não apenas da célula, mas do organismo como um todo, a diferentes condições fisiológicas (Fig 7.9).

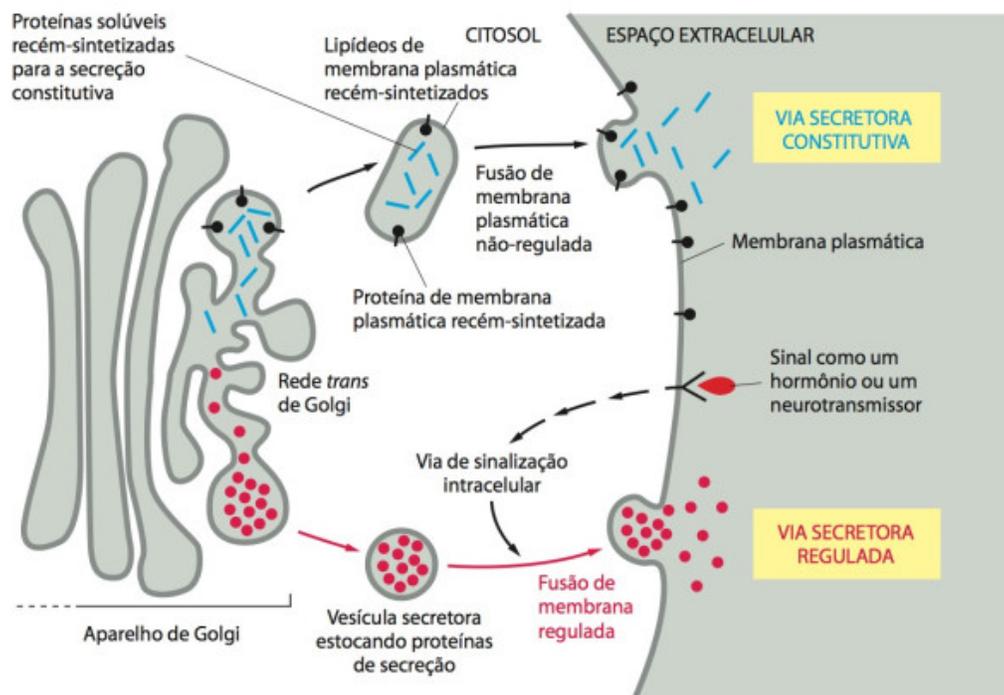


Figura 7.9 - As vias secretoras constitutiva e regulada. A via constitutiva opera continuamente. A via secretora regulada é encontrada principalmente em células especializadas para a secreção de produtos de necessidade urgente como hormônios, neurotransmissores ou enzimas digestivas. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 800.

Exemplo disso é dado pelas células β do pâncreas, responsáveis pela secreção de insulina. As moléculas de insulina recém-sintetizadas são acumuladas

em vesículas específicas (Fig 7.10), sendo secretadas apenas quando ocorre elevação na concentração de glicose no sangue, efeito obtido logo após a ingestão de uma dieta rica em carboidratos. Uma vez secretada, a insulina estimula a captura de glicose do sangue pelas células musculares e pelos hepatócitos, onde é catalisada para gerar energia ou armazenada na forma de glicogênio. Nos hepatócitos, o excesso de glicose também acarreta a síntese de ácidos graxos, que são transportados para adipócitos na forma de triacilglicerol. Dessa forma, a insulina promove a queda da concentração de glicose no sangue, mantendo-a praticamente constante apesar da ampla variação observada em relação à concentração de carboidratos ingerida nas dietas.

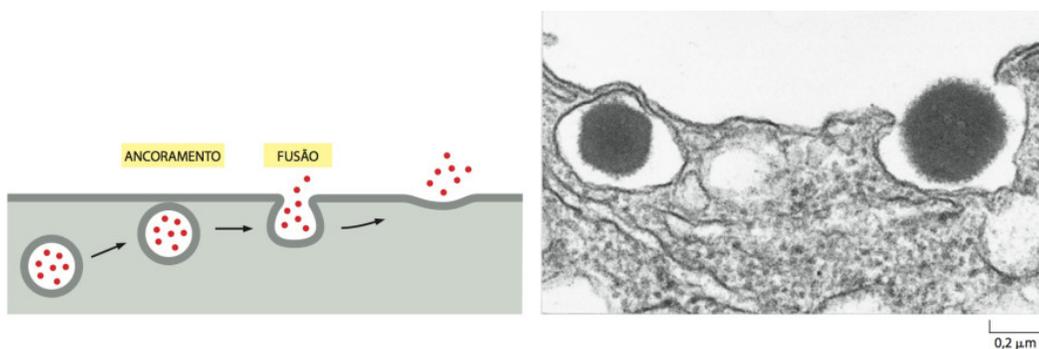


Figura 7.9: Exocitose de vesículas secretoras, a micrografia eletrônica mostra a liberação de insulina a partir de uma vesícula secretora de uma célula β pancreática. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 802.

7.5 Supondo que uma substância fosse capaz de inibir o Complexo de Golgi descreva uma das possíveis alterações que ocorreria nessa célula?

Resposta: _____

As **vesículas de secreção** (Fig. 7.11) representam uma reserva de material a ser exportado da célula e, além disso, constituem a sede de importantes modificações sofridas por esse material antes de sua liberação. Uma dessas modificações é a condensação ou agregação dos produtos de secreção, com eliminação de água, daí o termo vesículas de condensação, também atribuído a

essas estruturas. A condensação torna a secreção mais eficiente, pois evita perda de água para o meio extracelular e apresenta o conteúdo concentrado, garantindo sua liberação em grande quantidade. Outro processamento ocorrido nas vesículas de secreção consiste em quebras proteolíticas, essenciais para a ativação de vários produtos de secreção, como a tripsina e a insulina. O fato de tal fenômeno ter ocorrência restrita a essas vesículas garante que os produtos de secreção não atuem em compartimentos intracelulares.

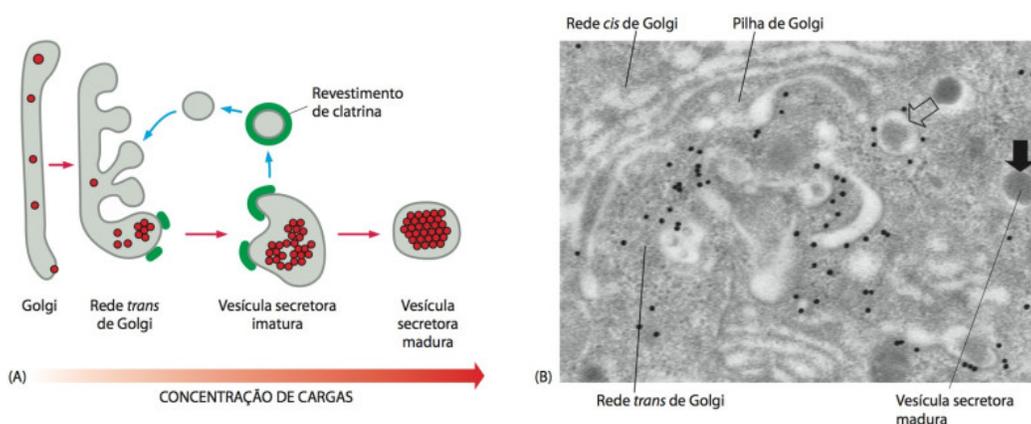


Figura 7.11 - A – concentração de produtos na vesícula secretora com condensação a medida que a vesícula amadurece. B – micrografia de célula β pancreática. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 802.

As vesículas de transporte:

Diferentes classes de coberturas vesiculares podem ser reconhecidas ao microscópio eletrônico e cada uma desempenha papéis específicos no transporte vesicular, sendo responsáveis por etapas distintas desse transporte. Atualmente, são facilmente reconhecidas a cobertura de **clatrina**, a cobertura formada por proteínas **COP I** (COat protein I) e a cobertura de proteínas **COP II** (COat protein II). Embora ainda existam dúvidas acerca da participação dessas coberturas em algumas etapas do transporte vesicular, extensos estudos nessa área já permitiram uma boa caracterização dessas proteínas.

As vesículas revestidas por COP I e COP II transportam material no início da via secretora, vesículas revestidas por COP II brotam do RE, responsáveis pelo transporte anterógrado e vesículas revestidas por COP I brotam do CG e fazem o transporte retrógrado (Fig. 7.12).

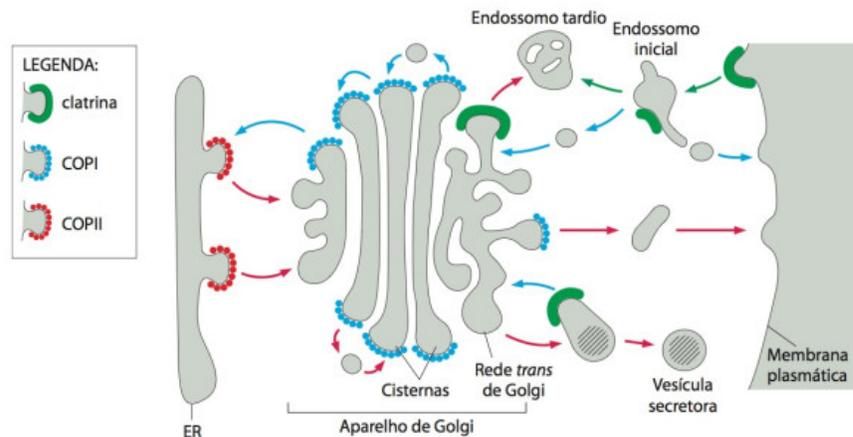


Figura 7.12 - Utilização de diferentes revestimentos no tráfego de vesículas. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 754.

Cada subunidade de clatrina se mantém ancorada à membrana da vesícula graças à ação de um complexo proteico conhecido por **adaptina**, que se liga simultaneamente à clatrina e a alguma proteína transmembrana. Várias dessas proteínas transmembrana são receptores que reconhecem substâncias específicas que, por isso, acabam fazendo parte do conteúdo da vesícula. Dessa forma, a cobertura de clatrina fornece um mecanismo extremamente interessante de **seleção dos produtos** que serão incorporados na vesícula, ainda no momento de sua formação e que, conseqüentemente, serão transportados por ela.

As vesículas recobertas por clatrina são destinadas ao sistema endossomolissossômico e via de secreção regulada.

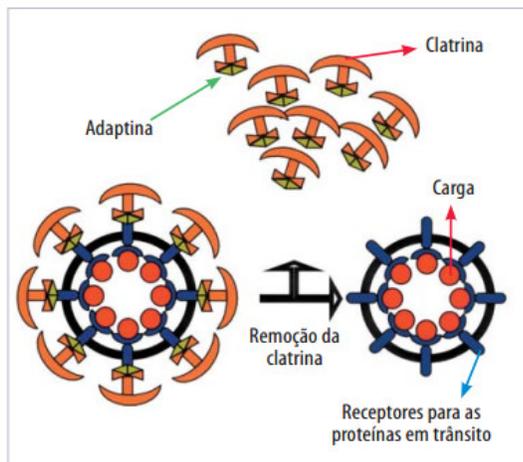


Figura 7.13 - A. Vesículas recobertas por clatrina são responsáveis pelo transporte de substâncias sinalizadas, como as enzimas lisossomais (que contêm manose-6-fosfato). Após a formação da vesícula, a cobertura de clatrina é removida, expondo os receptores de carga. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 347.

Reconhecimento e fusão:

Proteínas Rabs e SNARE promovem o reconhecimento e fusão das vesículas nos compartimentos alvo de forma a garantir a especificidade (Fig. 7.14). A vesícula reconhece no compartimento alvo a proteína efetora de Rab, aproximando a vesícula do compartimento. Após a ancoragem, as proteínas SNAREs se reconhecem e, aproximando ainda mais a vesícula da membrana, auxilia na fusão das membranas e assim o material da vesícula alcança seu alvo.

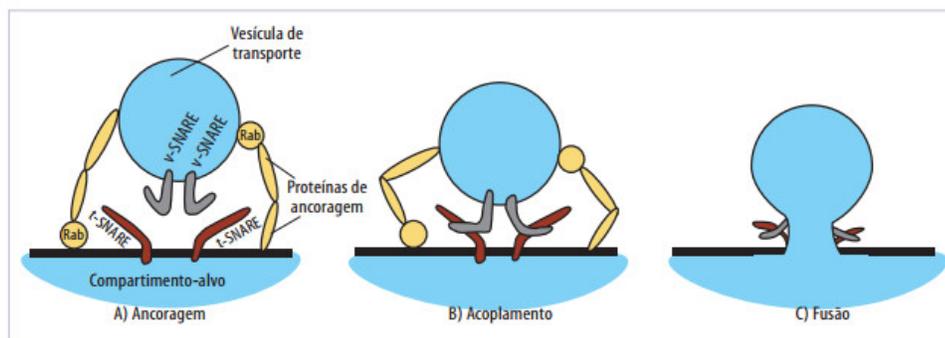


Figura 7.14 - Modelo de reconhecimento e fusão de vesícula de transporte à membrana do compartimento alvo. A. Associação de proteínas de ancoragem Rab e SNARE. B. Ligação t-SNARE v-SNARE com aproximação da vesícula à célula alvo. C. Fusão entre a membrana da vesícula e a do compartimento alvo. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 351.

Formação do Acrossomo:

O acrossomo, presente nos espermatozoides, consiste em uma vesícula, originada a partir do CG (Fig. 7.15), que contém enzimas hidrolíticas, principalmente proteases e glicosidasas. Essas enzimas são provenientes da luz do CG e permanecem no acrossomo até que um sinal, o contato entre espermatozoide e ovócito II, desencadeie sua liberação. As enzimas contidas no acrossomo têm a função de facilitar a penetração do espermatozoide no ovócito II, por digestão da zona pelúcida. O acrossomo mantém estreita relação espacial com o CG durante a espermiogênese.

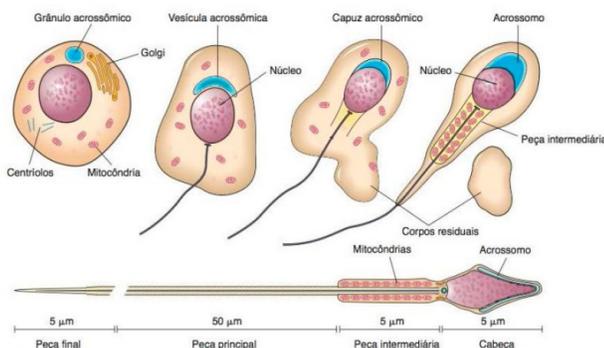


Figura 7.15 - Desenho esquemático mostrando as principais modificações pelas quais passam as espermátides durante espermiogênese. Observar a formação do acrossomo. Fonte: Junqueira & Carneiro, Histologia Básica, 11ª ed., 2008, página: 419.

Formação de membranas celulares:

As vesículas provenientes do CG têm como destino outras organelas, como o RE e endossomos, e a membrana plasmática. Quando atingem o destino, acontece a liberação do conteúdo dessas vesículas e fusão das membranas (Fig. 7.16). Os conteúdos lipídico e proteico das membranas das vesículas são incorporados às membranas de destino. Dessa forma, o CG atua na formação de membranas celulares. O transporte através do CG é bastante dinâmico e as vesículas provenientes do RE auxiliam na manutenção de sua estrutura. A recuperação de membranas do CG também acontece a partir da membrana plasmática, por

endocitose. Esse mecanismo é fundamental não apenas para manter a estrutura do CG, mas também para manter constante a estrutura da membrana plasmática. Durante a secreção, a fusão das vesículas aumenta muito a área da superfície celular e o mecanismo de endocitose é responsável por restabelecer a superfície celular.

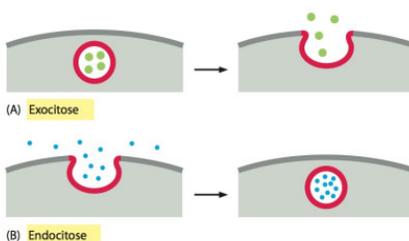


Figura 7.16 - A – Exocitose, a vesícula de transporte funde-se à membrana plasmática tornando contínua a esta. B – Endocitose, um fragmento da membrana é internalizado formando uma vesícula de transporte e reduzindo a área da membrana plasmática. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página: 750.

7.6 Descreva a relação entre o Complexo de Golgi e o Retículo Endoplasmático.

Resposta: _____

Fosforilação

Dentre as funções do CG esta a fosforilação de proteínas, que ocorre na rede ou cisterna CIS da organela. Uma das fosforilações mais significantes é a formação do resíduo **manose-6-fosfato** que ocorre nas enzimas pré-lisossomais. As enzimas que serão encaminhadas para a formação dos lisossomos recebem uma marca única na forma de manose- 6-fosfato os quais são exclusivamente adicionados aos oligossacarídeos N-ligados dessas enzimas lisossomais. Proteínas receptoras de manose-6-fosfato reconhecem esse grupo liberando seus conteúdos nos endossomos iniciais.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. e colaboradores. Biologia Molecular da Célula. 5ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.

CARVALHO, H. F., RECCO-PIMENTEL, S.M., A Célula, 3ª Ed. Barueri, Manole, 2013.

STANDRING, S. e colaboradores, Gray's, Anatomia, 40ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

Questões:

- Descreva a estrutura do CG.
 - O que é a via biossintética secretora?
 - Sobre o transporte a partir da rede trans de Golgi para o exterior da célula, corrija o que há de errado nas afirmações abaixo.
- a-) Dentro do Golgi ocorrem modificações pós-traducionais como por exemplo a N-glicosilação e pontes dissulfeto.
- b-) A via secretora regulada acontece apenas em células especializadas na secreção de produtos que são estocados e liberados sob o efeito de um sinal específico, como por exemplo: hormônios, neurotransmissores e enzimas digestivas.
- c-) Proteínas marcadas com manose-6-fostato são secretadas para o meio extracelular.

Capítulo 8

Sistema Lisossômico/Endossômico

Leandro Petinari

8.1 Quais moléculas são responsáveis pela ação dos lisossomos? Cite 3

Resposta: _____

Introdução:

Os lisossomos são corpos densos, esferoides, limitados por membrana, de 80 – 800 nm de diâmetro. Eles contêm hidrolases ácidas capazes de degradar uma ampla variedade de substâncias. Até agora mais de 40 enzimas lisossômicas foram descritas, incluindo proteases, lipases, carboidrases, esterases e nucleases. As enzimas são glicosiladas, e são mantidas em um baixo pH por bombas de prótons nas membranas lisossômicas (Fig. 8.1). Lisossomos são numerosos em células ativamente fagocíticas, por exemplo, macrófagos e granulócitos neutrófilos, nos quais os lisossomos são responsáveis por destruir bactérias fagocitadas. Nestas células, o fagossomo que contém a bactéria pode se fundir com vários lisossomos. Lisossomos também são frequentes em células com uma alta renovação de organelas, por exemplo, células de glândulas endócrinas e neurônios. Organelas degeneradas são direcionadas para degradação por um processo que não está completamente compreendido, mas que resulta em englobamento de áreas de citoplasma, incluindo organelas inteiras, em uma cisterna membranosa, a estrutura então se funde com lisossomos e o conteúdo é rapidamente degradado.

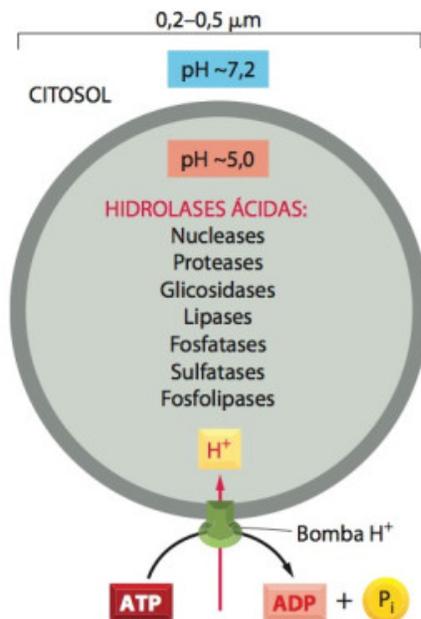


Figura 8.1 - Lisossomos. As hidrolases ácidas são enzimas hidrolíticas ativadas sob a condição ácida, a ATPase da membrana bombeia H⁺ para dentro do lisossomo mantendo seu lúmen em pH ácido. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 780.

8.2 Porque os lisossomos não são autodigeridos pelas enzimas lisossomais?

Resposta: _____

Estrutura:

Os lisossomos são estruturas geralmente esféricas e de tamanho extremamente variável, delimitadas por membrana. A identificação dessas organelas ao microscópio eletrônico depende da localização de marcadores específicos, como a atividade da fosfatase ácida, ou da presença de resíduos dos processos de digestão (Fig. 8.2). Os lisossomos apresentam uma **cobertura de carboidratos** que fica associada à face interna da membrana que os envolve e, aparentemente, é responsável por evitar a digestão da própria membrana pelas hidrolases que se acumulam no seu interior.

8.3 O que acontece com os resíduos da digestão intracelular?

Resposta: _____

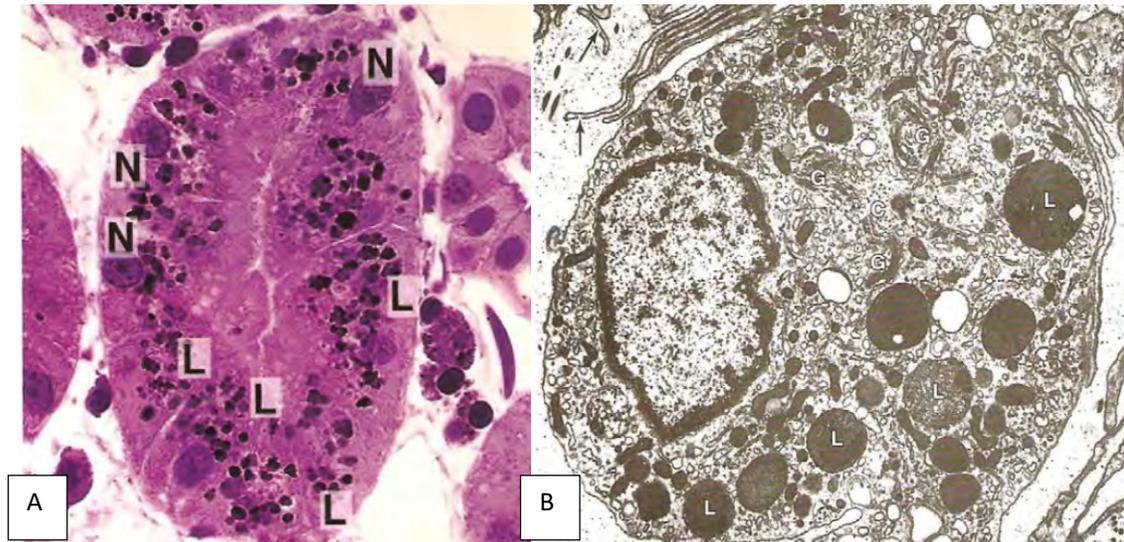


Figura 8.2 – A: Fotomicrografia de túbulos renais, os numerosos grânulos citoplasmáticos fortemente corados são lisossomos (L), os núcleos celulares também estão evidenciados (N). B: Elétron-micrografia de um macrófago, centríolo (C), aparelho de Golgi (G), numerosos lisossomos (L). Fonte: Junqueira & Carneiro. Histologia Básica, 11ª ed., 2008, página:39.

O material que foi hidrolisado dentro de endossomos avançados e lisossomos podem ser completamente degradados para produtos solúveis, por exemplo, aminoácidos, os quais são reciclados através de vias metabólicas. Entretanto, a degradação usualmente é incompleta e alguns detritos restam. Uma vesícula carregada de detritos é chamada corpo residual ou lisossomo terciário, e pode ser passada para a superfície celular, onde ela é ejetada por exocitose, alternativamente, ela pode persistir dentro da célula como um corpo residual inerte. Números consideráveis de corpos residuais podem se acumular em células de vida longa, muitas vezes se fundindo para formar vacúolos densos maiores com inclusões lamelares complexas. À medida que o seu conteúdo muitas vezes é fortemente pigmentado, isto pode mudar a cor do tecido, por exemplo, em neurônios

o produto final da digestão lisossômica, lipofuscina (neuromelanina ou pigmento da senilidade), dá aos cérebros envelhecidos uma coloração amarelo-acastanhada.

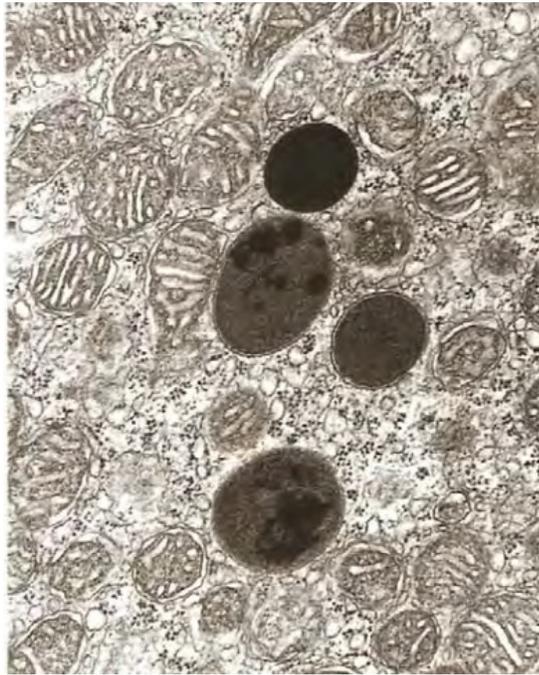


Figura 8.3 - Elétron-micrografia mostrando quatro lisossomos circundados por muitas mitocôndrias. Fonte: Junqueira & Carneiro. Histologia Básica, 11ª ed., 2008, página 40.

Formação dos Lisossomos:

Os lisossomos são formados a partir do complexo Golgiense. Da rede trans do Golgi saem pequenas vesículas de transporte contendo pré-enzimas lisossomais. Essas partículas conduzem as pré-enzimas lisossomais para os endossomos, o que contribui para a formação dos **endossomos tardios**. Há um progressivo decréscimo do pH no interior dessas vesículas por meio da ação de bombas de prótons (próton-ATPases), localizadas nas suas membranas. A ação dessas bombas **abaixa o pH** para menos de **6**, dissociando as enzimas lisossomais dos receptores para a manose-6-fosfato (Fig. 8.4). A transição dos endossomos tardios para os lisossomos é pouco evidente (Fig. 8.5).

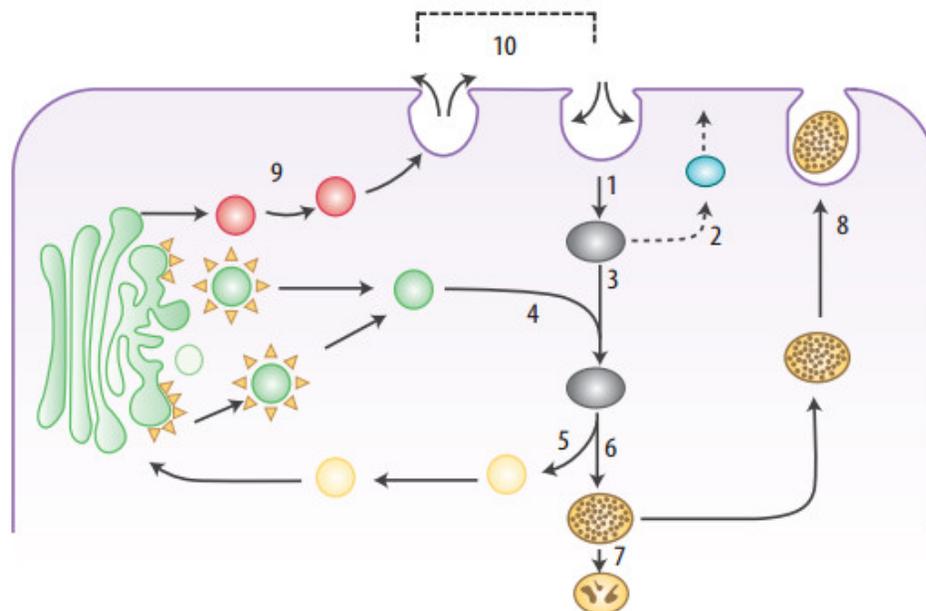


Figura 8.4 - Interações entre as organelas relacionadas aos lisossomos, identificando as vias de formação e de interconversão entre elas. Os endossomos iniciais são oriundos de modificações sofridas por vesículas de endocitose (1). A partir deles, são reciclados segmentos de membrana plasmática, assim como de receptores que foram internalizados por endocitose (2). Os endossomos tardios são formados a partir dos endossomos iniciais (3), pela adição de pré-enzimas lisossomais, transportadas em vesículas oriundas do complexo de Golgi (4). Dos endossomos tardios, os receptores para a manose-6-fosfato são reciclados para o complexo de Golgi (5). A transição endossomo tardio-lisossomo (6) é pouco compreendida, mas a distinção entre os dois compartimentos é baseada em diversos marcadores moleculares. Os lisossomos podem dar origem a corpos residuais (7), que ficam retidos em alguns tipos celulares, ou são eliminados por clasmocitose. Em alguns tipos celulares, os conteúdos lisossomais são secretados (8) de forma regulada. A fosfatase ácida atinge os lisossomos por uma rota alternativa. Após passar pelo complexo de Golgi ela é secretada (9) e chega aos lisossomos por endocitose (10). Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 357.

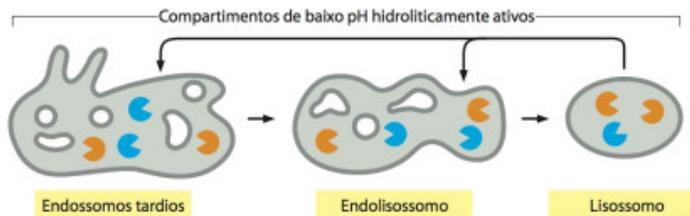


Figura 8.5 - Modelo para a maturação lisossomal. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 781.

Múltiplas vias levam o material aos lisossomos

Os lisossomos normalmente são locais de encontro em que várias correntes de tráfego intracelular convergem. A via que leva para fora do RE pelo complexo de Golgi entrega a maioria das enzimas digestivas, enquanto as substâncias que devem ser digeridas alimentam os lisossomos por diferentes vias dependendo das suas fontes:

Autofagia: Processo pelo qual as células degradam nos lisossomos componentes e organelas envelhecidas.

Endocitose: A endocitose é a internalização de vesículas formadas pela membrana plasmática. Elas podem conter: líquidos e solutos engolfados do líquido intersticial extracelular (pinocitose); macromoléculas ligadas a receptores da superfície (endocitose mediada por receptor); material particulado, como microrganismos ou detritos celulares (fagocitose).

Quando macromoléculas são captadas do fluido extracelular para a degradação nos lisossomos, essas moléculas são entregues em vesículas para organelas intracelulares pequenas e de formatos irregulares chamadas de **endossomos iniciais** que seguem para os **endossomos tardios** que irão formar os lisossomos. Vide figura 8.6.

Pinocitose: É a captação ativa de macromoléculas em solução. São projeções da membrana plasmática formando pseudópodos que englobam gotículas. Ocorre uma invaginação de uma área na membrana plasmática, formando pequenas vesículas que são puxadas pelo citoesqueleto e penetram no citoplasma. Em células do endotélio de capilares sanguíneos, as vesículas formadas atravessam o citoplasma, lançando seu conteúdo do outro lado da célula, servindo como transportadoras.

A pinocitose ocorre em locais específicos da membrana, podendo ser seletiva (a maioria das células) ou não seletiva (as vesículas englobam todos os solutos presentes no fluido extracelular). As seletivas ocorrem em duas etapas. Na primeira, a substância incorporada adere a receptores da superfície celular. Na segunda, a membrana se afunda e o material a ela aderido passa para uma vesícula, destacando-se da superfície celular e penetrando no citoplasma. Um exemplo disso

é nas células precursoras das hemácias ao incorporarem a transferrina, uma proteína plasmática transportadora de ferro, para sintetizar hemoglobina. A transferrina e a lipoproteína de baixa densidade transportadora de colesterol se ligam aos seus receptores, os quais se aglomeram em poços revestidos de clatrina através de uma interação com adaptinas. Os poços se invaginam e se destacam por brotamento da membrana plasmática, internalizando ambos o receptor e o ligante. Esse tipo de pinocitose tem a vantagem de possibilitar a incorporação ao citoplasma de grandes quantidades de um de tipo de molécula, sem penetrar muita água simultaneamente.

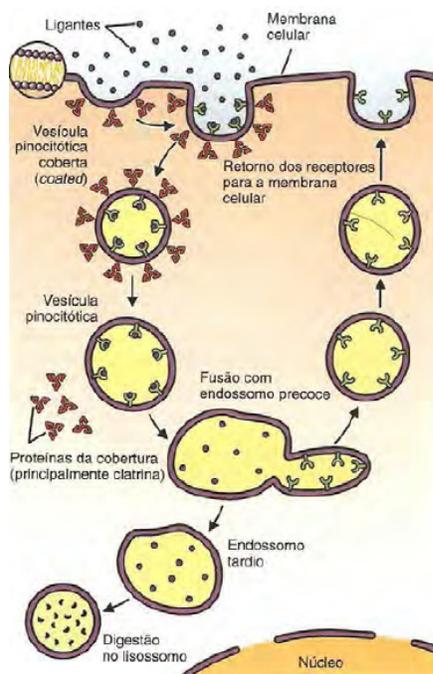


Figura 8.6 - Representação esquemática da via endocítica e da reciclagem de membranas. Ligantes, como hormônios e fatores de crescimento, ligam-se a receptores específicos da superfície celular e são internalizados por meio de vesículas de pinocitose recobertas por clatrina e outras proteínas. Após a separação das moléculas envolvidas, as vesículas de pinocitose se fundem com o compartimento endossômico, onde o pH baixo causa a separação entre as ligantes e seus receptores. A membrana com os receptores volta para a superfície celular, para ser usada novamente. Geralmente os ligantes são transferidos para lisossomos, toda a movimentação das vesículas é realizada pela atividade do citoesqueleto e de proteínas motoras. Fonte: Junqueira & Carneiro. Histologia Básica, 11ª ed., 2008, página 28.

Fagocitose: Ocorre em células especializadas como macrófagos e neutrófilos, que englobam partículas para a formação do fagossomo que é então convertido em um lisossomo (fig 8.7). Um microrganismo patogênico pode primeiro

ser revestido por anticorpos ligados a receptores para a porção Fc da molécula de anticorpo expressados por macrófagos e neutrófilos; o microrganismo é fixado à célula, há a formação de pseudópodos, que engolfam o organismo e o internalizam. O processo depende de motilidade celular baseada em actina–miosina e, diferentemente da endocitose mediada por receptor, processo dependente de energia. No interior da célula, o fagossomo se funde aos lisossomos e degrada o conteúdo. Os macrófagos também ingerem material particulado incluindo matéria inorgânica, como partículas de poeira inaladas, detritos de células mortas e agregados de proteína como complexos imunes no sangue, vias aéreas, espaços intersticiais e matrizes do tecido conjuntivo.

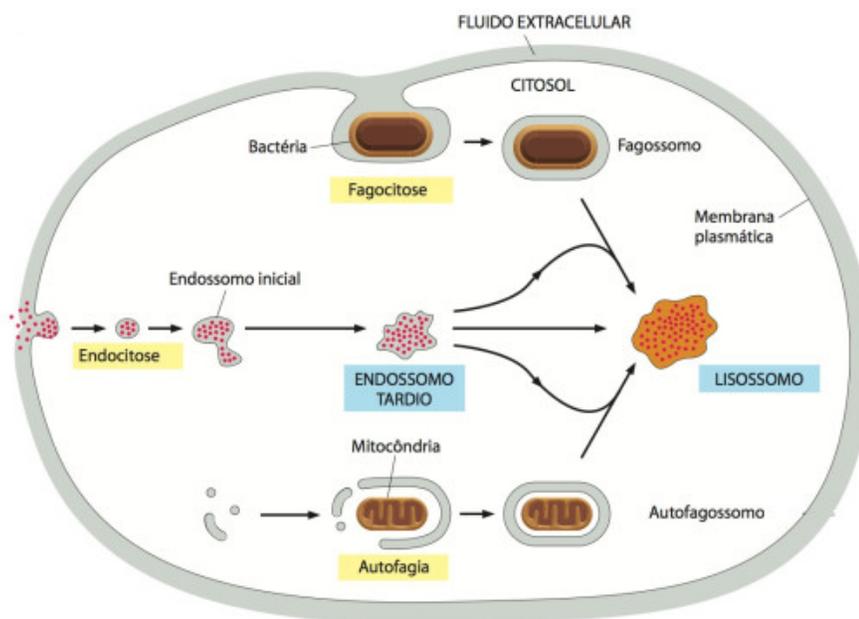


Figura 8.7 - Vias para a degradação em lisossomos. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página 784.

8.4 Qual a relação das tatuagens com os lisossomos?

Resposta: _____

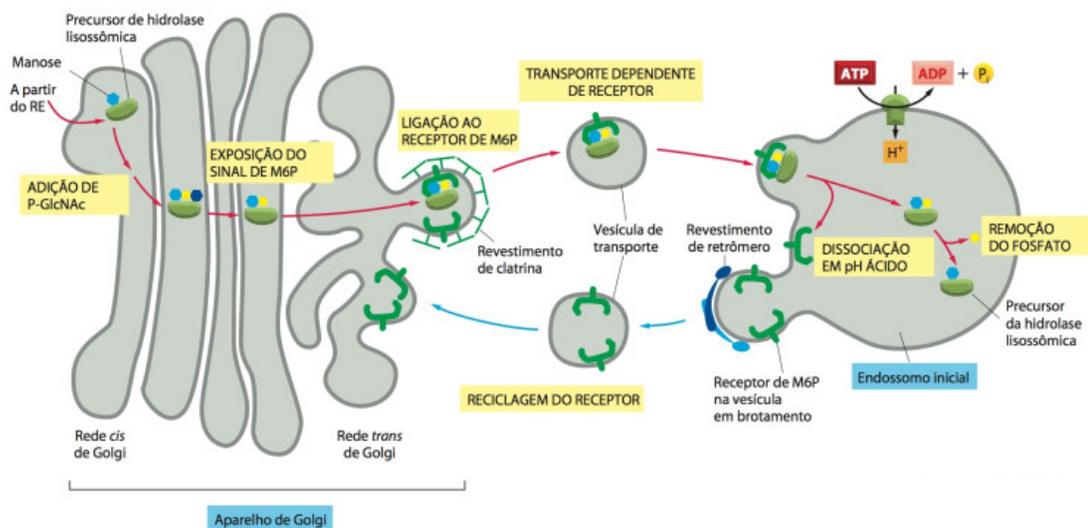


Figura 8.8 - Transporte de hidrolases lisossômicas recém sintetizadas aos lisossomos. Adição de resíduos manose 6 fosfato nas redes cis e trans do Golgi aos precursos das enzimas lisossomais. Ocorre a reciclagem dos receptores de manose 6 fosfato através de vesículas e devolvidas ao Golgi. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., 2010, página:785.

Doenças relacionadas aos Lisossomos:

As doenças relacionadas aos lisossomos apresentam efeitos cumulativos e resultam em degeneração dos tecidos, podendo levar a óbito. Há doenças de caráter genético, mas há também aquelas adquiridas ou que estão associadas à invasão parasitária. Outros componentes que também podem se acumular na ausência das enzimas lisossomais responsáveis pela sua degradação são os lipídios (p. ex., esfingolipídios e colesterol. No caso da doença de Gaucher (tipo 1), ocorre o acúmulo de esfingolipídios nos leucócitos, pela ausência de uma β -glicosidase, comprometendo a degradação de uma glicosilceramida. O sistema nervoso, rico nesses esfingolipídios, também sofre danos consideráveis nesses pacientes.

Tabela 1: Doenças lisossomais e localização cromossômica de alguns dos genes afetados.

Substrato/processo envolvido	Nome da doença	Localização cromossômica
Glicosaminoglicanos	Síndrome de Hurler (tipo IH)	4p16.3
	Síndrome de Hurler-Scheie (Tipo IH/IS)	4p16.3
	Síndrome de Hurter (tipo II)	Xq27-28
	Deficiência da β -glicuronidase (tipo VII)	7q21.1-q22
Esfingolipídios	Gangliosidose generalizada, gangliosidose GM1 (tipo 1)	3p21.33
	Doença de Tay-Sachs	15q23-q24
	Doença de Fabry	Xq22.1
	Doença de Gaucher (tipo 1)	1q21
	Doença de Niemann-Pick, deficiência da esfingomielinase (tipo 1)	11p15.4-15.1
Colesterol	Aterosclerose, doença de acúmulo de ésteres do colesterol por ausência da enzima colesterol-esterase	10q23.2-q23.3
Glicoproteínas (oligosacarídeos)	Fucosidose	1p34
	Manosidose, deficiência da α -manosidase	19p13.2-q12
	Deficiência da β -neuraminidase	6p21.3
	Sialolipidose	10pter-q23
	Galactosialidose	20q12-q13.1
	Aspartilglicosaminúria	4q32-q33

Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 365.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. e colaboradores. *Biologia Molecular da Célula*. 5ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.

CARVALHO, H. F., RECCO-PIMENTEL, S.M., *A Célula*, 3ª Ed. Barueri, Manole, 2013.

STANDRING, S. e colaboradores, *Gray's, Anatomia*, 40ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

Questões de fixação:

Que características contribuem para que o lisossomo seja a organela responsável pela degradação?

A face interna da membrana dos lisossomos é revestida por carboidratos. Qual a importância disso?

Questões para autoavaliação endomembranas:

1) Responda brevemente as questões abaixo:

a) Ligação onde é adicionado um carboidrato a um átomo de nitrogênio da cadeia lateral da asparagina _____

b) Auxiliam na formação das vesículas formadas no RE e se dirigem para a face de entrada do complexo de golgi _____

c) Auxiliam a formação de vesículas provenientes do complexo de golgi para o retículo endoplasmático _____

d) Auxiliam a formação das vesículas que surgem da membrana plasmática durante a endocitose e as vesículas que se formam no lado de saída do complexo de golgi e se dirigem aos endossomos e à membrana plasmática _____

e) Em relação ao direcionamento de proteínas para o retículo endoplasmático qual a função da “partícula de reconhecimento de sinal (SRP)”? _____

f) Enzima responsável pela clivagem do peptídeo _____.

2) Relacione as colunas:

- (A) Retículo endoplasmático liso
- (B) Reticulo endoplasmático rugoso
- (C) Complexo de golgi
- (D) endossomos (E) Lisossomos.

() Redes de tubos envolvidos por membrana e sacos, estão conectados entre e se estendem da membrana nuclear, não possui ribossomos .

() Localizado entre o retículo endoplasmático e endossomos e lisossomos

() É o segundo principal depósito de Ca^{++} da célula.

() É responsável por proteólise inicial da insulina e outros.

() Adição de carboidratos a lipídeos.

() Bastante desenvolvido em células com síntese proteica ativa.

() digerem materiais incorporados por endocitose ou elementos da própria célula

() possui enzimas líticas e funciona em pH 5,0

() Possui pH 7,0 e quando ativa, a bomba de prótons diminui o pH para 6,0, com a entrada de íons H^+ .

() Localizado entre a membrana plasmática e o complexo de golgi e possui o pH entre 7,0 a 6,0. Fonte: <http://genmol.blogspot.com/2014/>

3) Edital 01 UFSC 2009. Sobre o transporte vesicular de proteínas e membranas entre o retículo endoplasmático rugoso, o complexo de Golgi, os lisossomos e a membrana plasmática, identifique se são verdadeiras (**V**) ou falsas (**F**) as afirmativas abaixo.

() Vesículas revestidas pela proteína clatrina transportam proteínas lisossomais das cisternas CIS do complexo de Golgi para os lisossomos.

() As vesículas revestidas por clatrina transportam proteínas e membrana

das cisternas TRANS do complexo de Golgi para os lisossomos e endossomos.

() As vesículas revestidas pela COPII (“Coat proteins”) transportam proteínas e membrana do retículo endoplasmático rugoso para as cisternas CIS do complexo de Golgi.

() As vesículas revestidas por proteínas selecionam os componentes que serão carregados pelas vesículas e funcionam como um dispositivo mecânico que induz a membrana a formar um broto vesicular.

4) Assinale a alternativa que apresenta a sequência **CORRETA**, de cima para baixo.

A() V – F – V – F

B() V – V – F – V

C() F – V – V – V

D() F – V – F – V

E() F – V – V – F

5) Sobre o retículo endoplasmático rugoso e o complexo de Golgi, é **CORRETO** afirmar que:

A() no complexo de Golgi ocorre a síntese da maioria dos complexos de polissacarídeos, como os glicosaminoglicanos da matriz extracelular de células animais.

B() a cisterna TRANS apresenta uma trama de túbulos e vesículas na região

da pilha mais próxima ao retículo endoplasmático rugoso.

C() na formação do colágeno tipo I, a hidroxilação dos resíduos de prolina e lisina ocorre no retículo endoplasmático rugoso.

D() o transporte de vesículas ao longo de suas cisternas ocorre apenas de forma anterógrada, de uma cisterna

CIS em direção a uma TRANS, e não de forma retrógrada, de uma cisterna

TRANS em direção a uma CIS.

E() as cisternas do complexo de Golgi não apresentam diferenças em sua composição, o que torna possível que proteínas sejam modificadas ao longo de sua passagem pelas cisternas.

Capítulo 9

Mitocôndria

Leandro Petinari e Roberta Barbizan Petinari

Introdução:

A mitocôndria (mitos = filamento; chondrion = partícula) é uma organela citoplasmática existente em praticamente todos os tipos de células eucariontes. Essa organela apresenta principal função de gerar energia pela produção de ATP para utilização nas diversas formas de trabalho celular como: movimento, produção de calor, síntese de macromoléculas, transporte ativo, dentre várias outras atividades. A quantidade de mitocôndrias varia em cada tipo celular, estando diretamente relacionada à demanda energética, em alguns ovócitos tem-se 300 mil mitocôndrias por célula, enquanto que em células renais, em torno de 300. A distribuição de mitocôndrias no interior das células ocorre ao acaso, contudo podem acumular-se em locais que estejam diretamente relacionados com alta atividade metabólica, por exemplo, na base dos cílios e ao redor dos microtúbulos dos flagelos nos espermatozoides.

Morfologia:

Geralmente, essas organelas são estruturas alongadas de aproximadamente 0,5 micrômetros de diâmetro e vários micrômetros de comprimento. São constituídas de **duas membranas** estrutural e funcionalmente distintas. Elas definem dois compartimentos na mitocôndria: o **espaço Intermembrana**, que separa as membranas interna e externa, e a **matriz mitocondrial**, que está circundada pela membrana interna (Fig. 9.12 9.2).

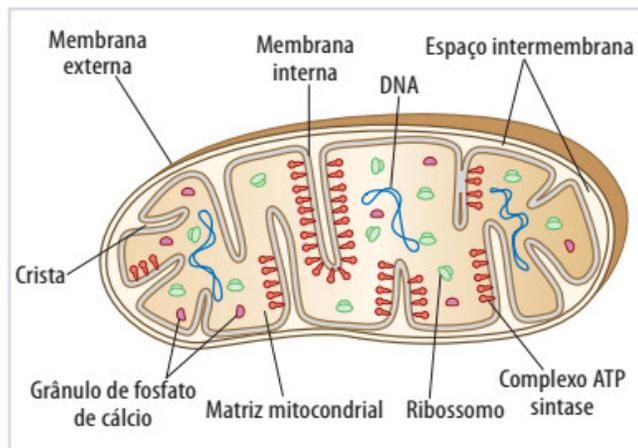


Fig 9.1 - Esquema de mitocôndria mostrando suas membranas interna e externa, espaço intermembranas, crista, matriz, complexo ATP sintase (F1F0), molécula de DNA, ribossomos e precipitado de fosfato de cálcio. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 370.

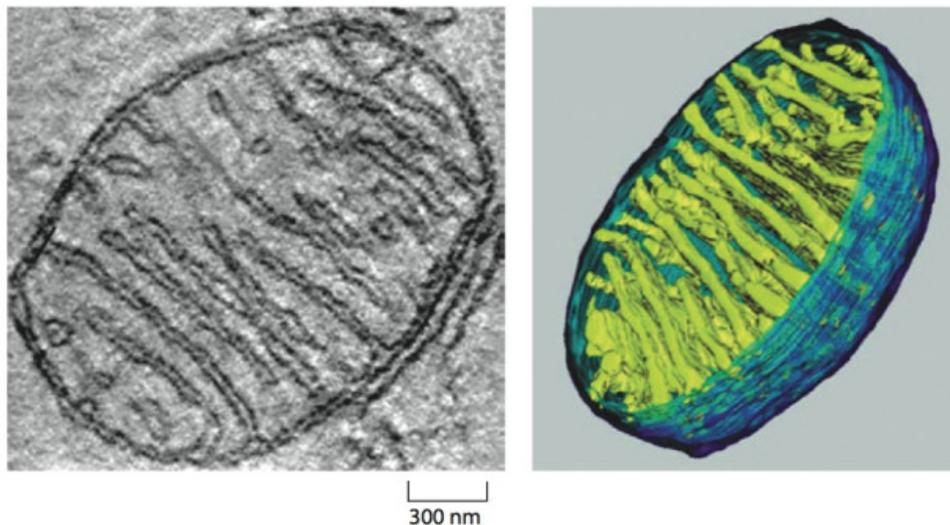


Fig 9.2 - Estrutura das mitocôndrias. Mostrando membrana interna, membrana externa, espaço intermembranas em micrografia eletrônica e reconstrução tridimensional. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 818.

Pode-se ressaltar que os lipídios das membranas mitocondriais são formados por fosfolipídios em sua maioria, e em menor quantidade por triglicérides e colesterol. As proteínas são, em sua maior parte, enzimas funcionalmente relacionadas com vários processos metabólicos, como a síntese de proteínas e de hormônios esteroides. Há drásticas diferenças entre as membranas interna e externa da mitocôndria.

9.1 Por que existe diferença na proporção lipídeos/proteínas entre as membranas da mitocôndria?

Resposta: _____

Na membrana externa, há 50% de lipídios e 50% de proteínas. As proteínas porinas, amplamente encontradas na membrana externa mitocondrial, formam canais transmembrana. As porinas não permitem que moléculas grandes passem livremente pela membrana, contudo as moléculas pequenas como açúcares ou íons podem passar livremente.

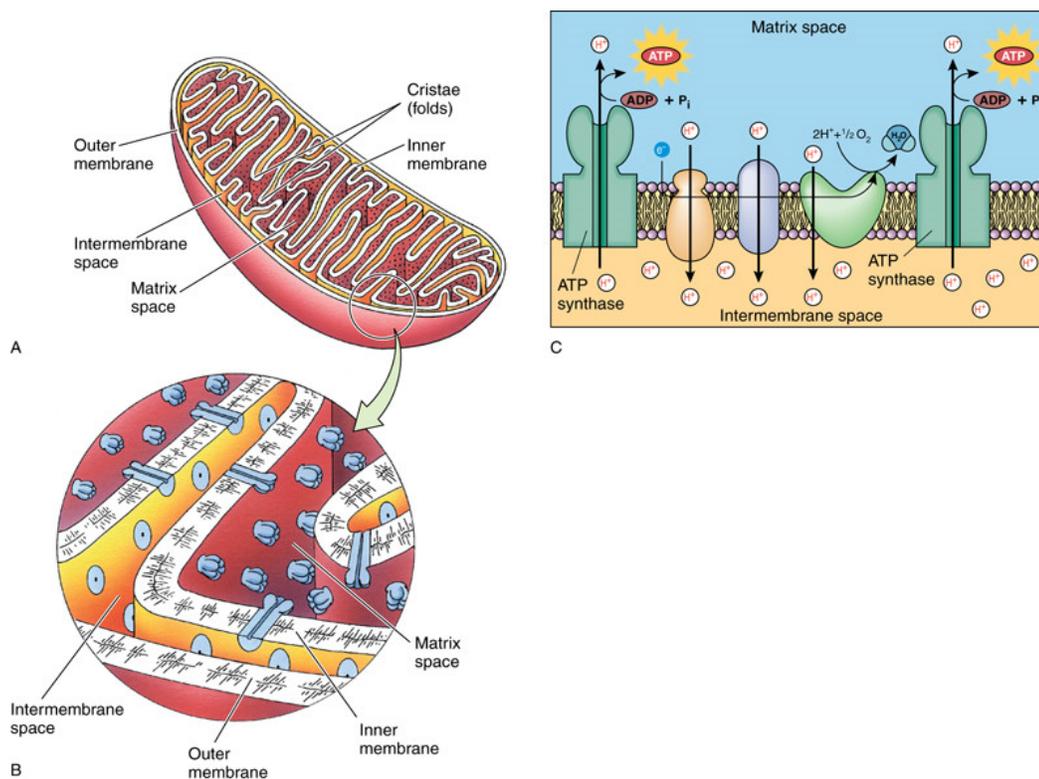


Fig 9.3 - A estrutura e função das mitocôndrias. A, Mitocôndria seccionada longitudinalmente para demonstrar suas membranas internas e dobradas. B, região ampliada da mitocôndria, exibindo as subunidades da membrana interna e a ATP sintase. C, Dois complexos de ATP sintase e três dos cinco membros da cadeia de transporte de elétrons que também funcionam para bombear hidrogênio (H^+) da matriz para o espaço intermembranar. ADP, adenosina difosfato; ATP, trifosfato de adenosina; P_i , fosfato inorgânico. Fonte: Gartner e Hiatt: Histology, 3rd ed., 2007, página 39.

A membrana interna (Fig 9.3) é composta de 20% de lipídios e 80% de proteínas. Essa grande concentração de proteínas confere uma maior seletividade dessa membrana à entrada dos mais diversos componentes, até mesmo de dimensões submoleculares, como os íons. Essas proteínas apresentam função de transporte de vários metabólitos além das funções elencadas abaixo:

- os citocromos a, b e c, a coenzima Q e a proteína citocromo oxidase que fazem parte do **sistema transportador de elétrons da cadeia respiratória**;
- a **ATP sintase** que promovem a síntese de moléculas de ATP utilizando a energia liberada na cadeia respiratória;
- a NADH desidrogenase, que libera um par de elétrons para a cadeia respiratória;
- a succinato desidrogenase, que catalisa uma das reações do ciclo de Krebs;
- a carnitina aciltransferase, que participa da transferência de ácido graxo do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial;

Para aumentar a área do local dos componentes da cadeia respiratória, a membrana interna sofre invaginações para o interior da organela, constituindo as **cristas mitocondriais**, pois quanto maior for a sua área, maior será o transporte de elétrons.

Delimitada pela membrana interna, está a **matriz mitocondrial**. A matriz contém enzimas hidrossolúveis, como exemplo, as relacionadas com as reações do ciclo do ácido cítrico; moléculas DNA mitocondrial (DNA circular) e toda maquinaria necessária para replicação, transcrição e tradução de proteínas.

Funções

Os aspectos funcionais da mitocôndria serão apresentados de forma resumida, maiores detalhes serão tratados em bioquímica.

Respiração celular: Na respiração, as moléculas orgânicas oriundas da alimentação bem como da reserva energética do organismo, serão oxidadas (Fig 9.4). O processo de oxidação de moléculas orgânicas é acompanhado da liberação de energia, que em sua maior parte, será utilizada na síntese do ATP. Entre os compostos que geram alto rendimento de ATP, estão os carboidratos e os lipídios,

além de compostos aminados como os aminoácidos. Uma importante etapa desse processo é a glicólise aeróbica.

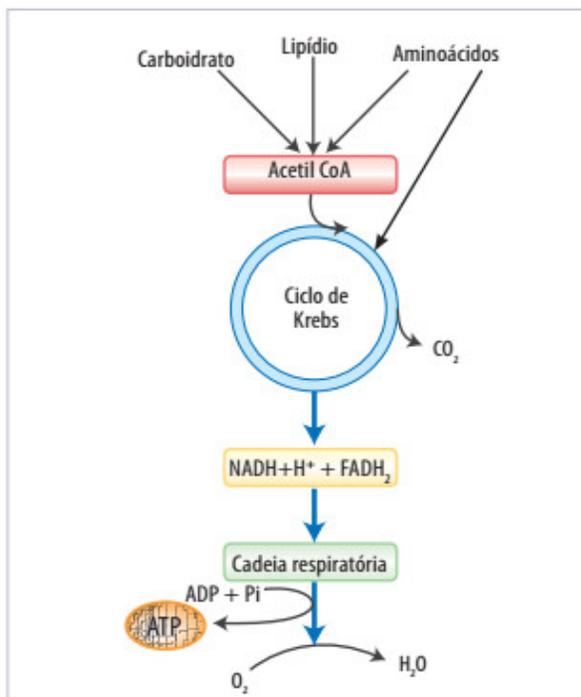


Fig 9.4 - Esquema geral da degradação oxidativa de carboidratos, lipídios e aminoácidos. A energia liberada é utilizada para a síntese de ATP. Em azul está representado o que ocorre dentro da mitocôndria. Alguns aminoácidos podem formar compostos intermediários do ciclo de Krebs diretamente. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 372.

As mitocôndrias utilizam **piruvato** e **ácidos graxos** que atravessam a membrana interna. A entrada dos ácidos graxos ocorre por difusão facilitada com a **carnitina** que age como proteína transportadora.

Na matriz mitocondrial, a partir do piruvato e da beta oxidação de ácidos graxos, formam-se moléculas de acetato. O acetato combina-se com a coenzima A para formar acetil-coenzimaA. Ainda na matriz mitocondrial, o acetil-coA combina-se com o ácido oxalacético para formar o ácido cítrico, dando início ao ciclo do ácido cítrico. Nas diversas etapas do ciclo há várias reações de descarboxilação das moléculas de acetil, que se decompõem em CO² e íons H⁺. Esses são transportados graças à presença de enzimas, na forma de NADH e FADH (Fig 9.5).

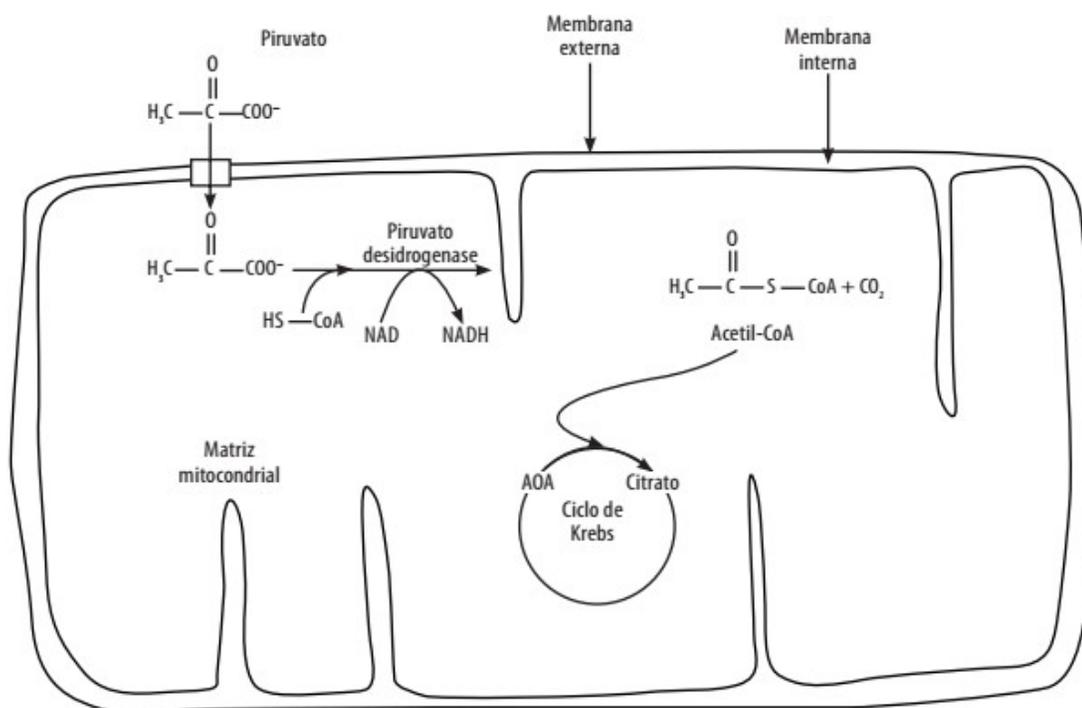


Fig. 9.5 - O piruvato originado pela degradação de glicose atravessa livremente a membrana externa e, com a ajuda de um transportador de membrana, também atravessa a membrana interna da mitocôndria. Na matriz, ele é descarboxilado formando o acetil-CoA, que entra no ciclo de Krebs ao reagir com o ácido oxaloacético (AOA) originando citrato. Observe que durante a descarboxilação de ácido pirúvico ocorre desidrogenação, com formação de uma molécula de NADH. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 374.

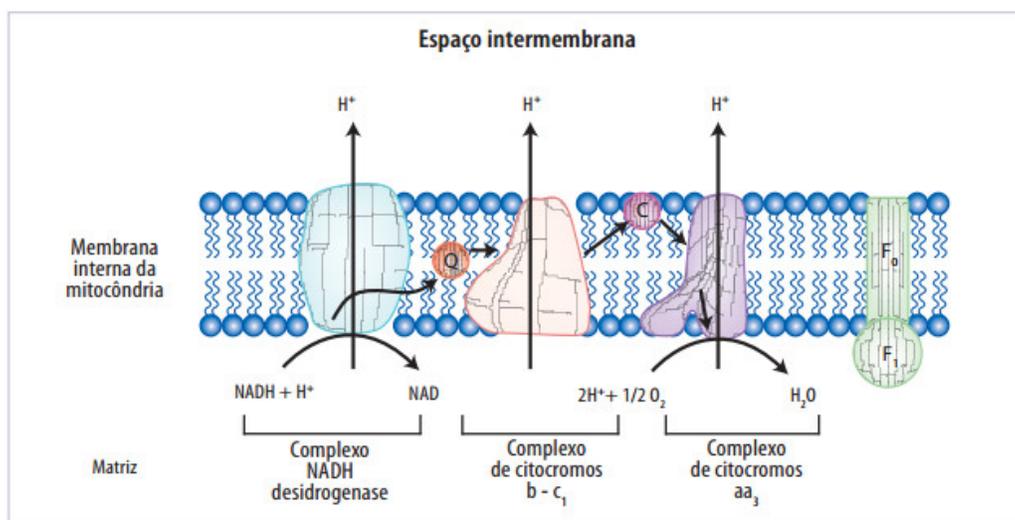


Fig. 9.6 - Membrana interna da mitocôndria mostrando o fluxo de elétrons do NADH até o oxigênio passando pelos complexos da cadeia respiratória. No complexo FoF₁ acontece a síntese de ATP. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 377.

As enzimas NADH e FADH são então oxidadas. Essas moléculas doam seus elétrons para a cadeia transportadora de elétrons na membrana interna liberando muita energia (Fig. 9.6), essa energia é utilizada para bombear prótons para a matriz mitocondrial. O gradiente de prótons promove a síntese de ATP a partir da ação da **ATP-sintase** de uma forma muito elegante. Os prótons, ao passar através de um canal na ATP-sintase, causa uma rotação desse carreador, produzindo assim o ATP aproveitando a energia mecânica oriunda da rotação.

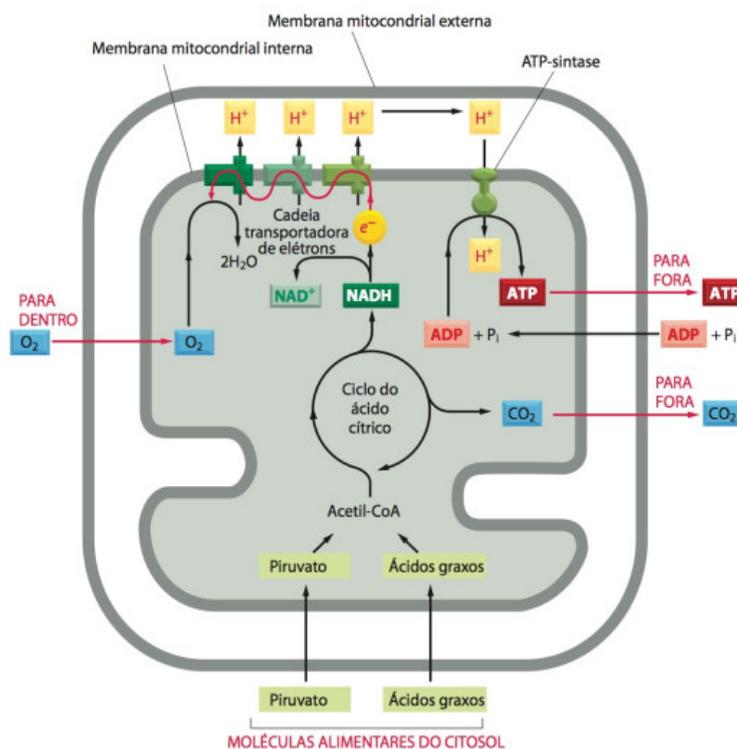


Fig. 9.7: Resumo do metabolismo produtor de energia nas mitocôndrias. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., 2010, página: 819.

Note que a cadeia transportadora de elétrons utiliza O₂ para a formação de ATP, quando a quantidade de oxigênio não é suficiente para suprir as demandas das células e tecidos o ciclo do ácido cítrico é interrompido e o piruvato começa a se acumular nas células sendo convertido a lactato (Fig. 9.8).

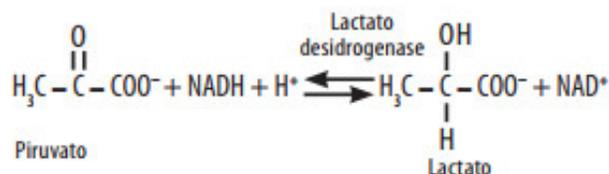


Fig. 9.8: Reação de conversão de piruvato em lactato, observe que a reação é reversível. Fonte: Carvalho, Fernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 372.

Outra função das mitocôndrias ocorre em alguns tecidos adiposos de recém-nascidos e também de alguns animais durante a hibernação. Nesses casos, ocorre a expressão da proteína **termogenina** que torna a membrana interna permeável aos prótons, desacoplando o transporte de elétrons da síntese de ATP. A energia liberada durante o transporte dos elétrons é então perdida na forma de **calor**, que nos casos supracitados é altamente benéfico.

As mitocôndrias também participam do processo de **apoptose** intracelular, um tipo de morte celular. Sob stress celular, por exemplo, essa organela é induzida a liberar o **citocromo c** para o citosol para formação do complexo apoptossomo. A morte celular será melhor discutida em ciclo celular.

A mitocôndria também está envolvida na produção da pregnenolona para produção dos hormônios esteroides. Para isso, o colesterol é transportado do retículo endoplasmático para a mitocôndria. A cadeia transportadora de elétrons do citocromo P450 promove as reações de hidroxilação e clivagem lateral para formação da pregnenolona, um composto intermediário, que é endereçado ao retículo endoplasmático para produção de progesterona, testosterona, 17-beta estradiol, glicocorticoides ou mineralocorticoides. A pregnenolona também pode ser produzida pelos peroxissomos, próxima organela que iremos discorrer.

Peroxisomo

Peroxisomo é uma organela presente na maioria dos eucariotos, composta de uma única membrana e muitas enzimas. As enzimas que constituem o peroxissomo, e suas reações metabólicas, variam conforme o tipo celular. Assim

como o seu número, tamanho e forma também variam com o tipo celular. Como exemplo, na espécie humana, os peroxissomos são abundantes nos hepatócitos e nas células renais, enquanto que fibroblastos e cérebro apresentam pouco número dessa organela. No geral, apresentam formato esférico (fig 9.9) com diâmetro de 0,2-1 micrômetros. A posição dessa organela é ao acaso, mas podem estar próximas às mitocôndrias e cloroplastos por contribuir com as vias metabólicas dessas organelas supracitadas.

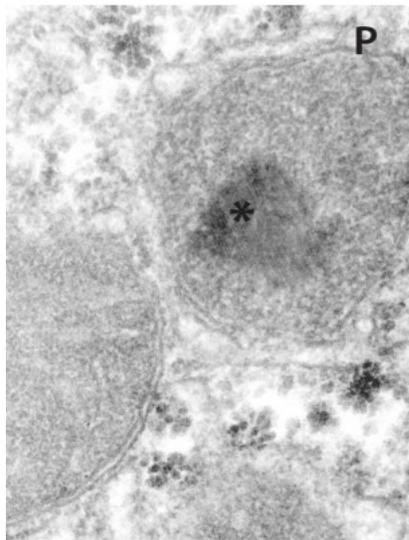


Figura 9.9: Microscopia eletrônica de transmissão de um peroxissomo (P) de fígado de rato. Aumento: 100.000x. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 388.

Não só a mitocôndria, como também os peroxissomos estão envolvidos no catabolismo de ácidos graxos das células animais. Os peroxissomos quebram ácidos graxos de cadeias longas e ramificadas em AcetilCoa para seguirem para oxidação na mitocôndria. Os indivíduos que não apresentam as enzimas responsáveis por essa via não chegam à puberdade, um exemplo é a doença Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X (ALD-X).

ALD-X é uma patologia que apresenta mutação no cromossomo que codifica a ALDP, proteína responsável por importar ácidos graxos de cadeia muito longa para o interior dos peroxissomos. Dessa forma, ocorre o acúmulo anormal de ácidos graxos de cadeia muito longa principalmente na substância branca do sistema nervoso, no córtex da adrenal e nas células de Leydig do testículo.

Os peroxissomos de células animais participam também de algumas outras vias biossintéticas relacionadas ao **metabolismo de lipídeos**, como a de precursores de glicerolipídios, de colesterol e de dolicol.

Outra relevante função do peroxissomo é a **degradação de peróxido de hidrogênio**. O H_2O_2 é tóxico para nosso organismo e assim a enzima **catalase** o degrada em água e oxigênio. Essa enzima também pode utilizar o peróxido de hidrogênio para oxidar metanol e etanol. Essa via é acionada em casos de consumo crônico ou de grande quantidade de álcool. Outros animais e células vegetais apresentam diversas outras funções dessa organela.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. e colaboradores. **Biologia Molecular da Célula**. 5ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.

CARVALHO, H. F., RECCO-PIMENTEL, S.M., **A Célula**, 3ª Ed. Barueri, Manole, 2013.

GARTNER AND HIATT., **Textbook of Histology**, 3ª Ed. Philadelphia, Ed. Saunders, 2007.

Questões:

1. Esquematize uma mitocôndria. Que processos importantes ocorrem em cada parte da organela?
 - a) produzem enzimas e ácidos nucleicos para uso no metabolismo de proteínas e ácidos graxos, sendo abundantes nas células do estômago e do pâncreas.
2. Qual a diferença entre as duas membranas da mitocôndria?
 - b) transformam lipídios em açúcares para uso na produção de ATP intracelular e manutenção das funções celulares normais, sendo abundantes no pâncreas
3. Em que consiste a cadeia respiratória e qual a sua importância para a fisiologia mitocondrial?
 - c) decompõem o peróxido de hidrogênio, realizam a oxidação de ácidos graxos e participam da síntese de compostos como o colesterol, sendo abundantes nas células do fígado e dos rins.
4. Concurso VUNESP 2014. Os peroxissomos são organelas celulares presentes no citoplasma de células animais e vegetais. É correto afirmar que, nas células humanas, essas organelas:
 - d) sintetizam enzimas e componentes da membrana plasmática e nuclear dos neurônios, sendo abundantes no sistema nervoso central.

e) iniciam a síntese proteica nos ribossomos celulares e a síntese de glicogênio, sendo abundantes principalmente nas células do fígado.

5. (UFMS 2010) Em relação às seguintes estruturas celulares:

- I. Mitocôndrias
- II. Lisossomos
- III. Peroxissomos
- IV. Cloroplastos
- V. Complexo Golgiense
- VI. Ribossomos

Identifique a(s) proposição(ões) correta(s). Assinale a(s) proposição(ões) correta(s).

01) A estrutura II está relacionada com a heterofagia e com a autofagia celular.

02) A estrutura VI está relacionada à síntese protéica.

03) A doença Silicose e a doença de Tay-Sachs estão relacionadas à estrutura I.

04) A estrutura V é abundante em células secretoras como as células das glândulas que produzem enzimas digestivas.

05) O processo de fotossíntese está relacionado à estrutura IV.

6) A estrutura III está relacionada ao transporte de substâncias e à síntese de esteróides na célula.

6.

(https://www.professor.bio.br/provas_topicos.asp?topico=Lisossomos%20e%20Peroxissomos) Uma criança de aproximadamente 1 ano, com acentuado atraso psicomotor, é encaminhada pelo pediatra a um geneticista clínico. Este, após alguns exames, constata que a criança possui ausência de enzimas oxidases em uma das organelas celulares. Esse problema pode ser evidenciado no dia-a-dia, ao se colocar H₂O₂ em fermentos. No caso dessa criança, a H₂O₂ "não ferve". O geneticista clínico explica aos pais que a criança tem uma doença de origem genética, é monogênica com herança autossômica recessiva. Diz também que a doença é muito grave, pois a criança não possui, em um tipo de organela de suas células, as enzimas que deveriam proteger contra a ação dos radicais livres.

A organela que apresenta deficiência de enzimas nessa criança é denominada

- a) lisossoma.
- b) centríolo.
- c) complexo de Golgi.
- d) mitocôndria.
- e) peroxissoma.

Capítulo 10

Núcleo

Franciane Pereira Brant e Roberta Barbizan Petinari

10.1 Qual a principal diferença entre células eucariontes e procariontes?

Resposta: _____

O núcleo é, normalmente, a maior estrutura intracelular, podendo assumir formas variadas, esférica ou elipsoide, conforme o tipo celular, com um diâmetro de 3–10 μm .

O núcleo é o centro de controle de todas as atividades celulares e onde se encontra toda a informação genética presente nos cromossomos. É também o local em que ocorre a duplicação do DNA, a síntese e processamento do RNA (ribossômico, mensageiro e a transcrição) que posteriormente serão encaminhados para o citoplasma. É importante observar que não há produção de proteínas no núcleo, elas são produzidas no citoplasma e enviadas a ele, quando é o caso.

Os principais componentes do núcleo são: envoltório nuclear, cromatina, nucléolo, matriz nuclear e o nucleoplasma.

Envoltório nuclear

As biomembranas, como estudado anteriormente, definem diferentes compartimentos celulares, dentre eles, um dos mais importantes, o núcleo celular, que por sua vez é delimitado pelo **Envoltório Nuclear (EN)**.

Uma das características fundamentais do envoltório nuclear nas células eucarióticas é a **compartimentalização do material genético**. Isso culmina na separação dos processos de transcrição e tradução. A transcrição, ou seja, a síntese de RNA a partir de um molde de DNA acontece no núcleo enquanto que a

tradução, síntese de proteínas com base em um molde de RNA mensageiro com a participação dos ribossomos e outros componentes, que ocorre no citoplasma.

Outra função do EN é a **organização espacial do material genético** no interior do núcleo, pois os cromossomos e genes ocupam posições definidas no núcleo interfásico além da determinação da **forma e proteção mecânica** do conteúdo nuclear, deixando-o menos sujeito aos movimentos celulares e/ou do citoplasma, ocasionados pelo citoesqueleto.

O **envoltório nuclear** também funciona como **barreira seletiva**, criando diferenças na distribuição de proteínas e íons entre o núcleo e o citoplasma. Essa função depende de trocas núcleo-citoplasmáticas obrigatórias à vida celular, existindo mecanismos de importação-exportação de componentes produzidos em um dos compartimentos e destinados ao outro, que ocorrem principalmente através dos complexos de poros. Outra importante característica é a que ocorre no mecanismo de regulação de controle durante o ciclo da divisão celular que é a sua **desintegração e reestruturação**.

Morfologia do Envoltório Nuclear

O EN apresenta **duas membranas** que delimitam o **espaço intermembranas ou perinuclear**. Em alguns pontos do envoltório nuclear a membrana interna se associa com membrana externa formando regiões de poros, **os complexos de poros**, que permitem a comunicação entre núcleo e citosol. Devido à complexidade desses poros, eles são denominados. A **membrana externa** mantém continuidade com o Retículo Endoplasmático, enquanto que a **membrana interna** está em contato com a cromatina e associada com a **lâmina nuclear** que dá sustentação ao EN.

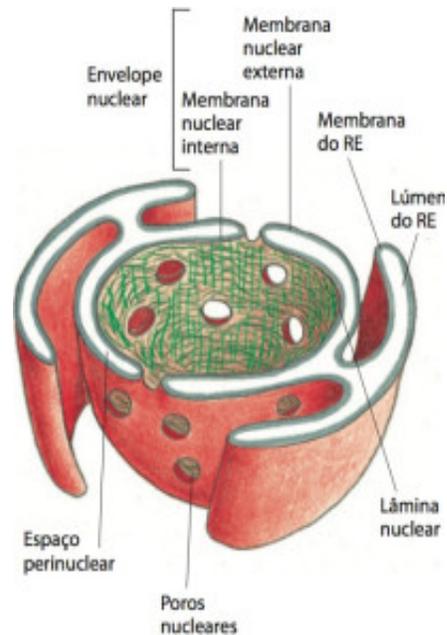


Figura 10.1 - No envoltório nuclear, o envelope de membrana dupla é penetrado por poros nos quais complexos de poros são posicionados, e é contínuo com o retículo endoplasmático. Os ribossomos que normalmente estão aderidos à superfície citosólica da membrana do RE e da membrana nuclear externa, não são mostrados. A **lâmina nuclear** é uma malha fibrosa logo abaixo da membrana interna. Fonte: Alberts, Biologia Molecular da Célula, 5ª ed., pg. 705. 2010.

Lâmina Nuclear

A lâmina nuclear é uma rede composta por **filamentos intermediários**, formando uma malha densa próxima à membrana interna que confere a estabilidade mecânica ao envelope nuclear.

A **lâmina nuclear** é um filamento proteico composto por vários monômeros chamados de lamina, laminas A, B e C. Os **filamentos de lamina** cruzam uns aos outros perpendicularmente para criar uma rede anastomosada irregular que cobre a superfície interior da membrana nuclear, reforçando mecanicamente a membrana nuclear. Isso além de determinar a forma do núcleo, fornece um local de ligação para uma variedade de proteínas que ancoram cromatina.

Dentre as **laminas nucleares**, a **A** é a proteína que mais sofre mutações. Essas mutações afetam as células musculares, adiposas, ósseas, nervosas e cutâneas. Desenvolvendo várias enfermidades, desde **distrofias musculares**

congênitas como até **progéria**, patologia que acelera o envelhecimento nas crianças (Mattout, 2006).

Comportamento da Lamina na Divisão Celular

Nos processos de divisão celular, a cromatina condensada (heterocromatina) tende a se agregar próximo da membrana nuclear durante a intérfase. Ao término da prófase mitótica e meiótica, os filamentos de lamina se desmontam, fazendo com que as membranas nucleares formem vesículas e dispersem para dentro do retículo endoplasmático.

Durante as fases finais da mitose (telófase), proteínas da periferia nuclear, inclusive laminas, se associam com a superfície dos cromossomos, fornecendo locais de ancoragem para vesículas de membrana. A fusão destas vesículas reconstitui o compartimento nuclear.

Complexo de Poro

O transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma ocorre por meio desses complexo de poros que perfuram a membrana nuclear, atuando como filtros moleculares direcionais altamente seletivos, permitindo que proteínas como as histonas e proteínas reguladoras de genes (que são sintetizadas no citoplasma, mas funcionam no núcleo) entrem no núcleo, e moléculas que são sintetizadas no núcleo, mas destinadas ao citoplasma (p. ex., subunidades dos ribossomos, RNAs de transferência e RNAs mensageiros) saiam do núcleo. Os complexos de poros são formados por mais de 100 proteínas diferentes, denominadas **nucleoporinas** (Fig. 9.2), dispostas respeitando uma distribuição circular em simetria octagonal.

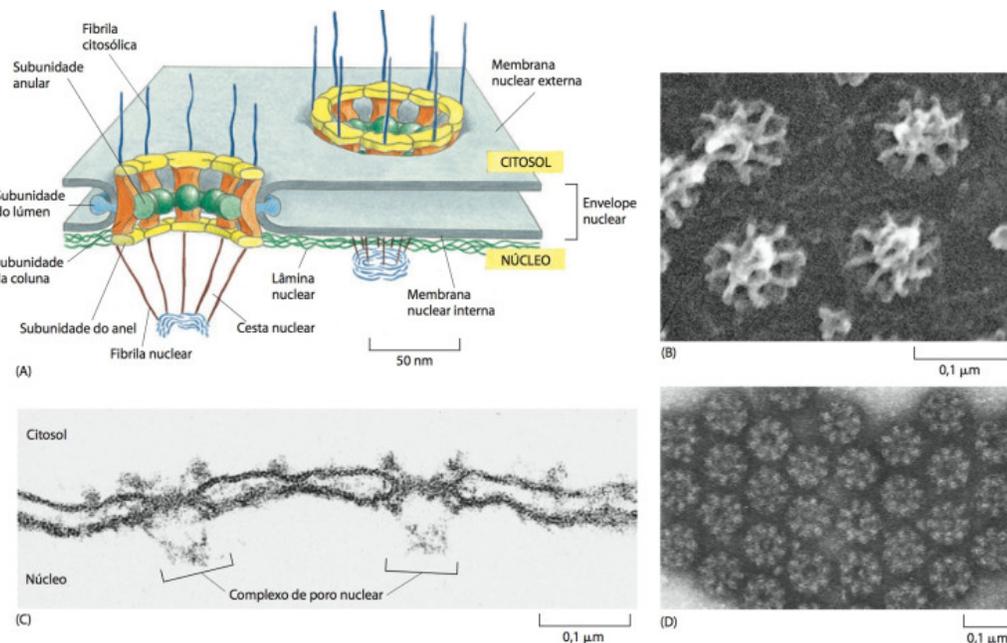


Figura 10.2 - Arranjo dos NPCs (complexo de poros nucleares) no envelope nuclear. (A) uma pequena região do envelope nuclear. Em secção transversal, um NPC parece ter quatro blocos estruturais de construção: subunidade da coluna, que formam a maior parte da parede do poro; subunidade anulares, que são centralmente localizadas; subunidades do lúmen, que contêm proteínas transmembrana que ancoram o complexo à membrana nuclear, e subunidades do anel que forma as faces citosólica e nuclear do complexo. Além disso, as fibrilas projetam-se em ambos os lados, citosólico e nuclear, do NPC. No lado nuclear, as fibrilas convergem para formar estruturas do tipo cesta. Os estudos de localização utilizando técnicas de microscopia imunoeletrônica mostram que as proteínas que formam o interior do NPC estão simetricamente orientadas ao longo do envelope nuclear de tal maneira que os lados citosólicos e nuclear parecem idênticos. Em contraste, as proteínas que formam as fibrilas são diferentes em cada um dos lados citosólico e nuclear do NPC. A simetria da oitava dobra rotacional e da segunda dobra transversal do centro do NPC explica como a enorme estrutura pode ser formada a partir de apenas cerca de 30 diferentes proteínas: muitas dessas proteínas estão presentes em 16 cópias (ou múltiplos de 16). Domínios desorganizados de proteínas internas (não mostrado) são encontrados por estenderem-se ao longo do centro dos NPCs, bloqueando a difusão passiva de grandes macromoleculares. (B) uma micrografia eletrônica de varredura do lado nuclear do envelope nuclear de um oócito. (C) uma micrografia eletrônica mostrando uma vista lateral de dois NPCs (colchetes); note que as membranas nucleares interna e externa são contínuas a margem do poro. (D) uma micrografia eletrônica mostrando uma vista frontal dos NPCs corados negativamente. A membrana foi removida por extração com detergente. Note que alguns NPCs contem materiais nos seus centros, que poderiam ser macromoléculas em trânsito através dos NPCs. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., pg. 706. 2010.

As nucleoporinas apresentam funções distintas, várias apresentam a função de ancorar o complexo de poro nas membranas do envoltório nuclear, outras nucleoporinas formam fibrilas que se projetam do complexo de poro em direção ao citosol enquanto que diferentes tipos de fibrilas se projetam para o interior do núcleo, por fim, uma classe de nucleoporinas forma um canal central.

Esse canal permite a livre passagem de moléculas extremamente pequenas, que apresentem massa igual ou menor a 60 quilodaltons. Entretanto, moléculas grandes terão sua passagem através do EN dificultada.

10.2 Cite quais macromoléculas precisam ser translocadas pelo EN. e quais devem ficar retidas no núcleo?

Resposta: _____

As proteínas citoplasmáticas só serão transportadas ao núcleo se apresentarem uma sequência de localização nuclear (**NLS**, nuclear localization sequence), que corresponde a um conjunto de aminoácidos (Figura 10.3). As NLSs são reconhecidas por receptores citoplasmáticos, esses receptores são chamados **importinas**, e então o complexo proteína e importina é direcionado ao complexo de poro e translocado. Durante a passagem gasta-se um GTP, havendo, portanto, gasto de energia. No núcleo, uma proteína denominada **Ran-GTP** associa-se à importina, separando a importina da proteína. A proteína pode então desempenhar sua função enquanto que a importina, agora ligada ao Ran-GTP, volta para o citoplasma. No citoplasma, o GTP é hidrolisado a GDP e o complexo se desfaz, disponibilizando a importina para um novo ciclo de transporte para o interior do núcleo.

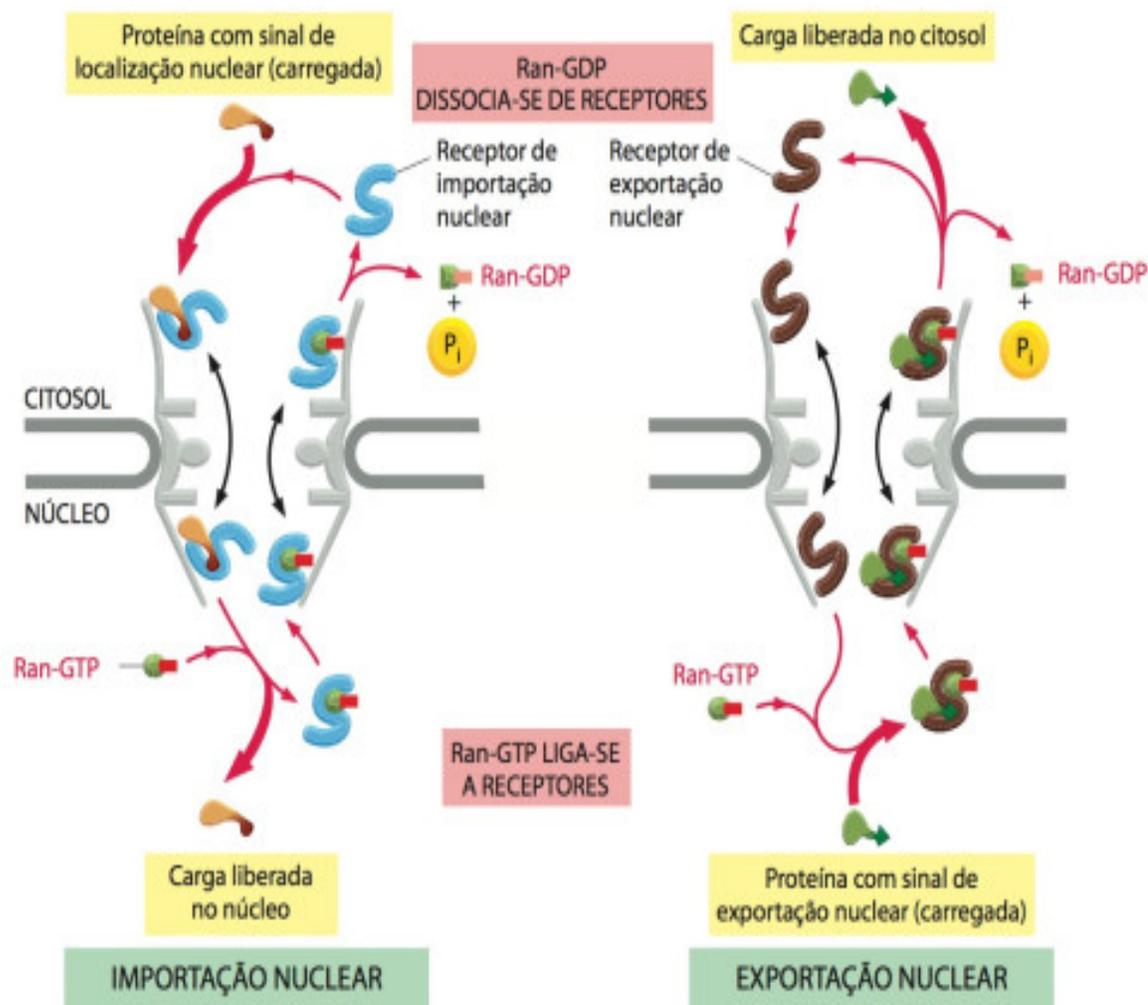


Figura 10.3: Modelo explicando como a hidrólise de GTP por Ran no citosol fornece direcionalidade para o transporte nuclear. O movimento de receptores de transporte nuclear carregados através do complexo de poro pode ocorrer por difusão guiada ao longo das repetições FG presentes nas proteínas NPC. A localização diferencial de Ran-GTP no núcleo e de Ran-GDP no citosol propicia direcionalidade (setas vermelhas) tanto para a importação nuclear (esquerda), quanto para a exportação nuclear (direita). A hidrólise de GTP para produzir Ran-GDP é mediada por Ran-GAP no lado citosólico do NPC. A Ran-GDP é importada para o núcleo por seu próprio receptor de importação, que é específico para a conformação de Ran ligada a GDP. O receptor Ran-GDP não é relacionado estruturalmente a principal família de receptores de transporte nuclear. Entretanto, ele também liga-se a repetições FG em proteínas NPCe salta através do NPC. Fonte: Alberts, *Biologia Molecular da Célula*, 5ª ed., pg. 709. 2010.

As macromoléculas do núcleo que devem ser transportadas para o citoplasma também vão apresentar sequências de aminoácidos específicos que sinalizam que elas devem ser transportadas pra fora do núcleo, o sinal de exportação nuclear (**NES**). A NES será reconhecida por receptores denominados **exportinas**. Esse

transporte também apresenta gasto energético e precisa da participação da RAN-GTPase.

Cromatina

Leandro Petinari

O material genético dos eucariotos está representado pelo **DNA** que é constituído por duas cadeias helicoidais de polinucleotídeos complementares (purinas-pirimidinas) chamadas de bases nitrogenadas que estão na região central. Essas estão ligadas a cadeias de açúcar-fosfato nas laterais. No núcleo das nossas células somáticas encontram-se 46 moléculas de DNA que compõe o **genoma humano**. A organização estrutural do DNA ocorre quando o DNA se complexa com proteínas histônicas e proteínas não histônicas, formando as fibras de **cromatina**.

As proteínas **histonas (H1, H2A, H2B, H3 e H4)** auxiliam na compactação do DNA, que se organizam formando fibras nas células interfásicas. Os nucleofilamentos são as fibras de 11 nm de espessura, e então os cores nucleossômicos desses nucleofilamentos podem se associar formando os solenoides que apresentam 30 nm de espessura, a partir dessa organização são formadas as alças (Fig. 10.4). No período interfásico a cromatina pode ser distinta em **euromatina**, na sua forma descondensada, correspondendo a regiões em transcrição ativa, e **heterocromatina**, com regiões do material genético que não estão envolvidas na transcrição. As alças são dobradas formando os **cromossomos** que apresentam condensação máxima de suas unidades durante o período de metáfase da divisão celular.

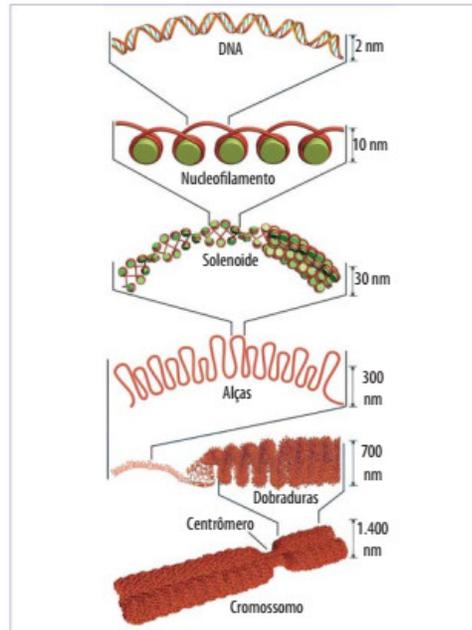


Figura 10.4: Níveis crescentes de organização cromatínica. Fonte: Fonte: Carvalho, Hernandes F. A Célula, 3ª ed., 2013, página: 191.

Nucléolo

Roberta Barbizan Petinari

O nucléolo (Figura 10.5) é a estrutura celular mais facilmente visível em microscopia de luz comum. A maioria das células apresenta um único nucléolo, entretanto hepatócitos, oócitos de anfíbios e células vegetais apresentam mais de um nucléolo. O nucléolo apresenta-se em geral esférico com grande diversidade de tamanho devido à espécie e estado funcional da célula. Eles serão maiores em células com síntese proteica muito ativa, como exemplo de células glandulares, neurônios e até mesmo em muitas células tumorais.

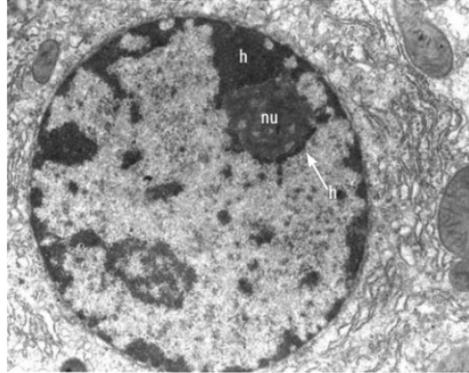


FIG 10.5 - Hepatócito de camundongo observado ao microscópio eletrônico, salientando nucléolo (nu) circundado por áreas heterocromáticas (h). Cortesia de Benedicto de Campos Vidal. Fonte: Carvalho, Hernandes F. A célula, 3ª ed., 2013, página: 206.

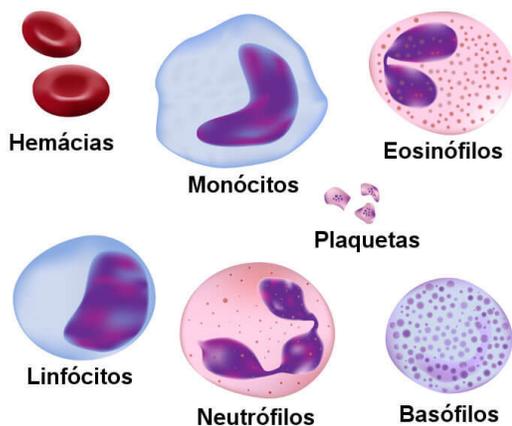
Essa organela é responsável pela produção dos ribossomos. A cromatina associada ao nucléolo denomina-se **Região Organizadora do Nucléolo** (“RON” ou do inglês “**NOR**”) onde estão localizados os genes responsáveis pela síntese de RNA ribossômicos (rRNAs). Enquanto os rRNAs estão sendo transcritos, já ocorre os processamentos pós-transcricionais, como metilação e clivagem e a associação com proteínas ribossomais. Formam-se assim as duas subunidades do ribossomo, sendo uma maior (60S) e outra menor (40S) que atravessam o envoltório nuclear alcançando o citoplasma. No momento da tradução de uma proteína, as duas subunidades se unem e associam-se com a molécula de mRNA.

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
 CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S. M.. **A Célula**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2013.
 MATTOUT *et al.* Nuclear lamins, diseases and aging. **Curr Opin Cell Biol**. 18(3):335-41; 2006.

Questões:

1. Estabeleça correlações morfofuncionais entre o Envoltório Nuclear e o Retículo Endoplasmático Rugoso.
2. O que é Lâmina Nuclear? Qual o seu papel funcional?
3. Como um RNA transportador sai do núcleo e alcança o citosol?
4. O formato do núcleo ou até mesmo sua ausência, além da disposição da cromatina que pode ser evidenciada por corantes que ajuda a diferenciar células do sangue. Veja a imagem abaixo e classifique os tipos celulares em anucleares, mononucleares e polimorfonucleares.



Fonte:

<https://brasilecola.uol.com.br/biologia/leucocitos.htm>

5. (UFPR 2010) O complexo de poro nuclear é a estrutura que regula o

trânsito de grandes moléculas (como RNA e proteínas) entre o núcleo celular e o citoplasma. O número de complexos de poro encontrados no envoltório nuclear pode variar entre diversos tipos celulares.

a) Coloque em ordem crescente de número de complexos de poro por núcleo os seguintes tipos celulares: neurônio, espermatozoide, adipócito.

b) Justifique a ordem escolhida, com base nos conhecimentos de biologia e fisiologia celular.

6. (UFF, 2000) Diversas proteínas, como as histonas e várias enzimas, embora sintetizadas no citoplasma, são encontradas no núcleo. A passagem destas macromoléculas pelo envoltório nuclear é possível porque:

a) ocorre um mecanismo específico de endocitose que permite a passagem de certas macromoléculas;

b) o envoltório nuclear possui poros que permitem a passagem de macromoléculas;

c) ocorre um mecanismo específico de pinocitose que permite o

englobamento de algumas macromoléculas;

d) existe, neste envoltório, um mecanismo de transporte simultâneo e oposto de ácido ribonucléico e proteínas;

e) existem transportadores nas membranas externa e interna do envoltório nuclear que realizam o transporte das macromoléculas, passando pelo lúmen do envoltório.

7. (Cesgranrio- RJ) Dos constituintes celulares a seguir relacionados, qual está presente somente nos eucariontes e representa um dos critérios utilizados para distingui-los dos procariontes?

a) DNA.

b) Membrana celular.

c) Ribossomo.

d) Envoltório nuclear.

e) RNA.

8. Marque a alternativa INCORRETA.

a) A membrana interna do núcleo apresenta filamentos intermediários que constituem a lâmina nuclear.

b) O complexo do poro é formado por várias proteínas, entre as quais destacamos Ran.

c) As proteínas que são sintetizadas no citossol e se destinam ao núcleo da célula possuem uma sequência sinal, NLS.

d) As exportinas reconhecem o sinal de exportação nuclear.

Capítulo 11

Ciclo Celular

Rafael Leonhardt e Roberta Barbizan Petinari

11.1 Defina de forma sucinta os conceitos:

DNA: _____

Cromossomo: _____

Cromossomo-homólogo: _____

Centrossomo: _____

Cinetócoro: _____

Cromátide: _____

Gene: _____

Genoma: _____

Haploide e Diploide: _____

Genótipo e Fenótipo: _____

Todas as células de um organismo multicelular possuem o mesmo material genético e este precisa ser fielmente transmitido para as futuras gerações de células.

No processo, os eucariontes fazem a duplicação dos cromossomos que, posteriormente são *segregados* e por fim repassados para as célula-filhas (idênticas geneticamente à célula precursora). Lembrando que as organelas e macromoléculas também são duplicadas e distribuídas às célula-filhas para que mantenham o mesmo tamanho e função.

11.2 Por que as células precisam se multiplicar?

Resposta: _____

Divisão do Ciclo Celular

Normalmente o tempo gasto para a célula crescer é maior do que duplicar o próprio genoma e se dividir. Por isso os autores dividiram em fases o processo de divisão eucariótico em Interfase e Mitose (M).

Interfase: Demanda-se muito mais tempo que a fase M. Nessa fase a célula cresce continuamente e só para antes da mitose acontecer. A interfase foi subdivida em fases G1, S e G2. Sendo G1 e G2 fases de intervalo para o crescimento celular.

G1: Considera uma fase especial pois é nela que a célula avalia as condições favoráveis do ambiente externo e *sinalização de crescimento* de outras células para a progressão do ciclo.

Células diferenciadas ficam em um estado conhecido como **G0 (G zero)**, ou seja, estas células entram em repouso da divisão e focam nas atividades celulares. **A fase G0 costuma ser permanente, entretanto, sob certos estímulos, algumas células podem retornar para G1.**

Havendo presença dos estímulos de crescimento, a célula em G0 ou início de G1 tem continuação no ciclo até o chamado **ponto de restrição**. A partir desse ponto os sinais de crescimento não importam mais e a célula começa sua replicação do material genético.

11.3 Dê exemplo de uma célula que fica permanentemente em G0 e outra que pode ir de G0 -> G1

Resposta 1: _____

Resposta 2: _____

11.4 Por que isso seria interessante para o corpo?

Resposta: _____

S: Nesta fase acontece a replicação do DNA. Tal processo ocupa metade do tempo do ciclo celular e ocorre com extrema precisão a fim de evitar mutações.

Cada nucleotídeo é copiado apenas uma vez. (Esse mecanismo é altamente complexo e será abordado em outra fase do estudo).

11.5 Algumas doenças são comuns quando esse mecanismo falha. Cite a mais prevalente:

Resposta: _____

G2: Assim como G1, é uma fase de intervalo para o crescimento da célula e preparação para a Mitose. Atente-se que nesta fase já foi terminada a duplicação do genoma. Em G2 cada cromossomo estará com duas fitas duplas DNA ligados por proteínas chamadas **coesinas**.

Coesina

De forma simplificada, uma coesina é um complexo proteico que forma uma estrutura semelhante a um anel que circunda as cromátides-irmãs (Fig. 11.1).

Coesinas se ligam em diversos pontos ao longo das cromátide-irmãs, mantendo a coesão entre elas.

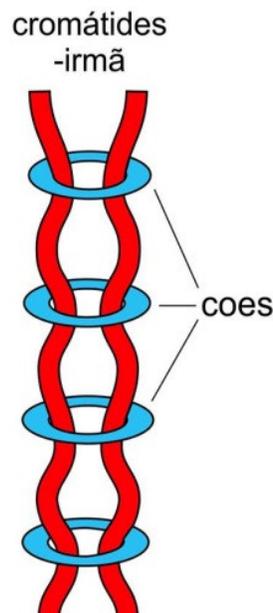


Figura 11.1 – Os anéis azuis representam coesinas mantendo a coesão das cromátides-irmãs. Fonte: O Autor (2020)

Controle do Ciclo Celular

A célula desenvolveu formas de evitar erros no processo de reprodução celular os quais só se tornaram de conhecimento humano ao final dos anos 80. Descobriu-se que existem pontos de controle (Fig. 11.2) durante o ciclo celular cuja função é evitar que a célula continue a progressão do ciclo e ganhe tempo para o reparo (se possível) ou entre em *apoptose* (*morte celular programada*).

Tais pontos de controle são uma série de interruptores bioquímicos que, quando o nível de alguma substância da célula se encontra até determinadas concentrações, ele age impedindo ou retardando a progressão do ciclo.

Os mais importantes são:

Transição G1/S

Transição G2/M

Transição Metáfase-Anáfase

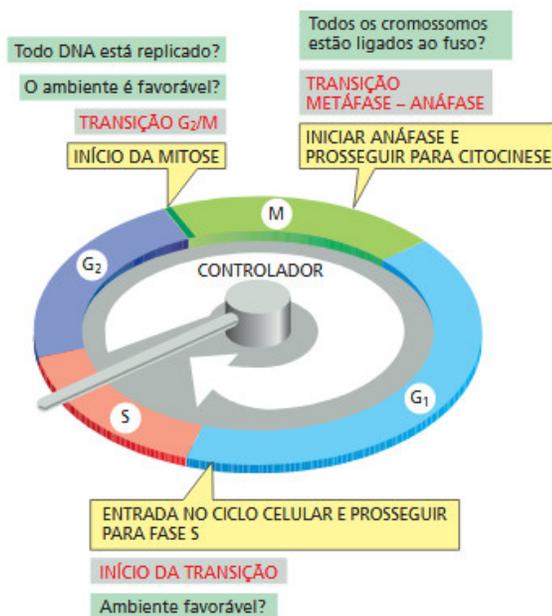


Figura 11.2 – Representação dos pontos de checagem. Repare que na imagem já cita a maior importância em cada passo. Primeiro já descrito é se o ambiente é favorável para a multiplicação da célula. O Segundo verifica se o DNA está corretamente replicado e o último se todos os cromossomos estão ligados ao fuso. Fonte: Alberts – A Biologia da Célula 6ª Edição, fig. 17-9 da pg. 968.

11.6 O que poderia acarretar caso não houvesse esse controle?

Resposta: _____

Proteínas-Cinase e Ciclinas

Estes são os componentes centrais do controle do ciclo celular. Para não se confundir, atendem-se dessa forma:

As proteínas-cinases são dependentes das ciclinas para serem ativadas e controlam assim a progressão do ciclo. Elas só têm atividade se ligadas às ciclinas. Por isso são denominadas **proteínas quinases dependentes de ciclina (Cdks;** do inglês; *Cyclin-depedent-kinases*);

- Elas não variam em quantidade durante o ciclo.
- As cinases tem função de fosforilar substratos.

As **ciclinas**, como nome já sugere “*ciclo*”, têm variações de suas concentrações durante o ciclo, com síntese e degradação. Dessa forma, ditam o ritmo da atividade das Cdks (Fig. 11.3).

Quatro classes de ciclinas atuam em fases diferentes do ciclo celular. Sendo as 3 classes mais importantes:

G1/S-ciclinas: Comprometem a célula à entrada no ciclo celular. Ativam Cdks no final de G1 e têm seus níveis diminuídos na fase S.

S-ciclinas: Ao entrar no ciclo, essas ciclinas se ligam as Cdks e estimulam a duplicação dos cromossomos. De forma geral, a S-Cdk ativa proteínas que desenrolam o DNA para que se possa iniciar a replicação. Isso acontece em vários pontos do DNA pois sabe-se que na célula eucariótica vários pontos são replicados ao mesmo tempo e somente uma vez a fim de acelerar o processo. Nessa fase também aumentam a síntese de produção das proteínas da cromatina.

M-ciclinas: Ativam Cdks que estimulam a entrada em mitose da célula fosforilando as subunidades de condensina.

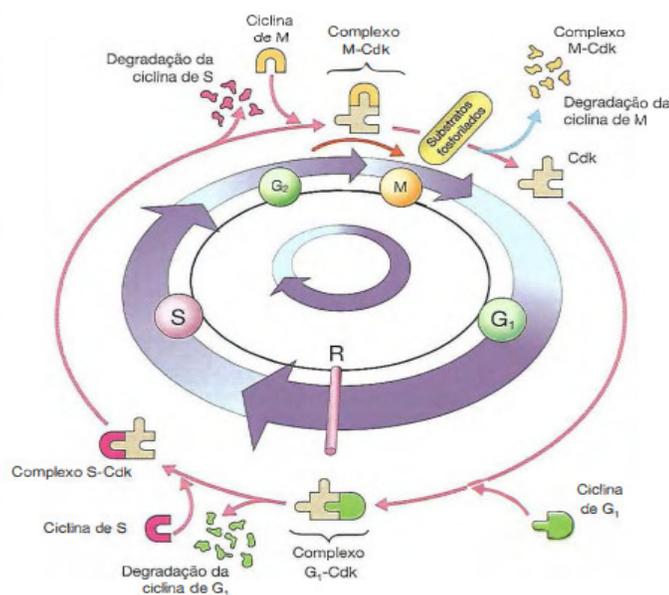


Figura 11.3 – A ligação da ciclina com a CDK formando os complexos responsáveis pela progressão do ciclo com suas determinadas atividades. Fonte: Junqueira e Carneiro – Biologia Celular e Molecular 9ª Edição, fig 9.15 da pg 193.

Reguladores da atividade das ciclinas

11.7 O que poderia ocorrer se as ciclinas não tivessem sua atividade regulada?

Resposta: _____

Como já foi dito, o aumento e a redução da concentração de ciclinas é importante durante o ciclo celular. Os dois mecanismos mais conhecidos são:

Mecanismo 1: Importante no controle da M-Cdks no início da mitose. A inibição da M-Cdk ocorre pela fosforilação (adição de um grupo fosfato) de um par de aminoácido no sítio ativo da cinase. Exemplo: cinase **wee1** (Fig. 11.4). Entretanto, o aumento da atividade da M-Cdk será realizado pela desfosforilação. Exemplo: fosfatase **Cdc25**.

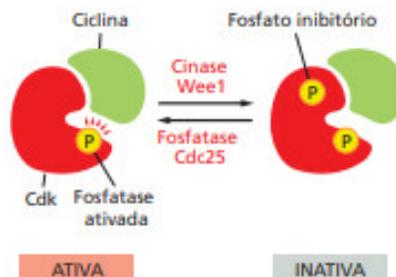


Figura 11.4 – A fosfatase cdc25 retirando o fósforo ativando o complexo. Em outro momento, a cinase Wee1 fosforilando inativando o complexo Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição fig. 17-13 da pg. 970.

Mecanismo 2: Importante no auxílio na regulação das G1/S- Cdk's e S- Cdk's no início do ciclo celular (Fig. 11.5). Existem **Proteínas Inibidoras de Cdk (CKIs)** as quais inativam os complexos Cdk's por meio de ligação aos complexos Cdk's, promovendo desarranjos na estrutura tridimensional no sítio ativo. Exemplo: p 21 e **p27**

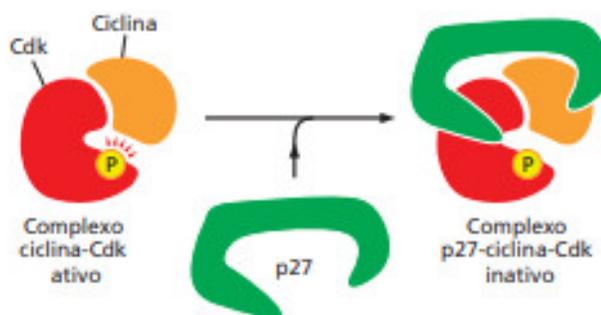


Figura 11.5 – a CKI, p27, ligando-se ao complexo de forma que altera sua estrutura tridimensional a ponto de não mais poder haver atividade. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 17-13 da pg. 971.

Você já ouviu falar do gene guardião do genoma, o **p53**? A proteína por ele expressa, a p53, regula a transcrição da p21. A proteína p21 previne que a célula vá para a fase S, isso é importante caso haja danos no DNA. Assim, se a p53 constata que o DNA está danificado, a célula fica aprisionada em G1, para que ela tenha

tempo de reparar o DNA. Se esse dano for muito severo, a p53 conduz a célula para a *apoptose*.

11.8 Quais podem ser as consequências caso o p53 esteja inativo ou mutado?

Resposta: _____

Morte Celular Programada

Muitas células que são indesejáveis são eliminadas do corpo pelo processo chamado **Apoptose**. Outras que não conseguiram reparar um dano no seu material genético também entram nesse processo.

11.9 Dê exemplos de células indesejáveis.

Resposta: _____

Apoptose

Apoptose é uma morte celular fisiológica, ordenada e com gasto energético. Na apoptose ocorre os seguintes eventos:

- Condensação celular;
- Colapso do citoesqueleto;
- Fragmentação do Envoltório nuclear;
- Compactação da cromatina;
- Fragmentos são fechados por membranas que são facilmente fagocitadas,

Portanto, a célula não deixa que seu conteúdo com proteínas pró-inflamatórias e outras substâncias atinjam o tecido. Isso faz com que sejam rapidamente fagocitadas e digeridas de forma rápida sem causar danos às outras células adjacentes.

As Caspases

As caspases são proteases intracelulares que clivam inúmeras proteínas das células, causando mudanças que levam a morte da célula de forma ordenada para que facilite ser fagocitada e digerida. Contudo, para que não ocorra uma morte prematura, a maioria das células saudáveis produzem precursores das caspases que são inativas. Então, quando devidamente sinalizadas, essas *pró-caspases* são ativadas e começam o processo de apoptose (Fig. 11.6).

Existem 2 tipos de caspases:

Iniciadoras – Recebe o sinal para apoptose.

Executoras – É clivada pela iniciadora, tornando-se ativa e amplificando ainda a resposta para o processo. Exemplo. Algumas executoras fazem destruição da lâmina nuclear outras a degradação do DNA.

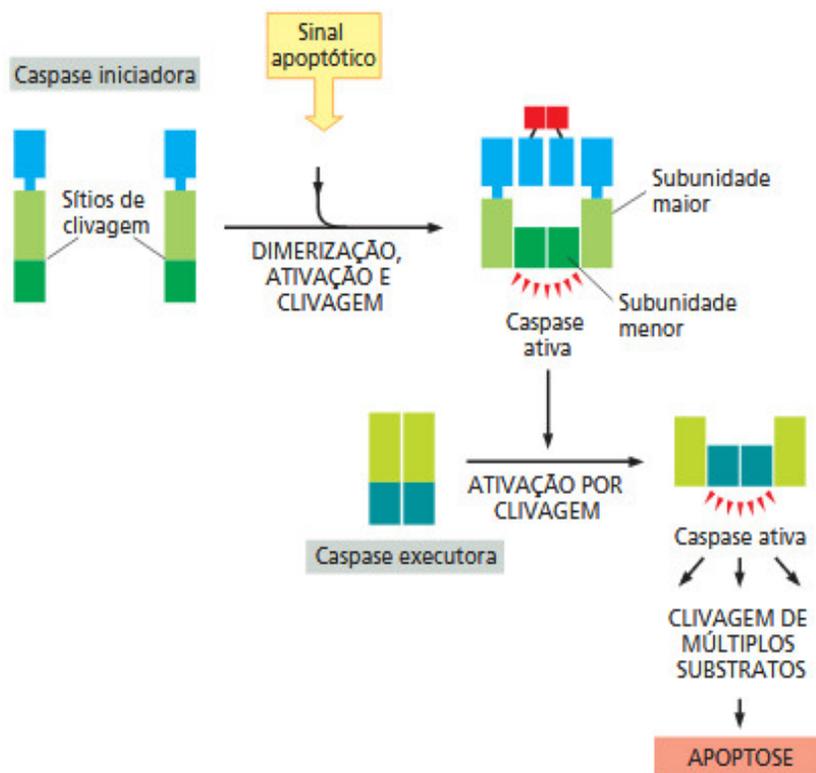


Figura 11.6 - Simplificação da cascata que promove ativação das caspases. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição fig 18-3 da pg. 1023.

A Via Intrínseca da Apoptose Depende da Mitocôndria

Proteínas que residem no espaço intermembrana das mitocôndrias governam esse tipo de apoptose, geralmente como resposta a estresse na célula. Tais proteínas mitocondriais liberadas no citosol ativam as caspases proteolíticas.

Citocromo C – Proteína-chave dessa via. Ela, quando liberada no citosol liga na **Apaf1** (fator 1 de ativação de protease apoptótica), formando o **apoptossomo**, que por fim, ativa a cascata de caspases.

Família de Proteínas Bcl2 - Essas proteínas regulam a apoptose dessa via. Existem tanto as Bcl2 **pró**apoptóticas quanto **anti**apoptóticas.

Pró-apoptóticas Bax e Bak - É necessário ao menos uma dessas duas para a via intrínseca efetuar a cascata de apoptose. A Bak se encontra ligada à membrana externa mitocondrial enquanto a Bax fica no citosol e se insere na membrana mitocondrial no disparo da apoptose.

Anti-apoptóticas Bcl2 e BclXL - Estão localizadas na superfície da membrana mitocondrial externa impedindo a liberação das proteínas apoptóticas do espaço intermembrana, haja vista que as Bcl2 e BclXL inibem as proteínas pró-apoptóticas.

Exemplo: ligam-se a BAK e impedem a liberação do *citocromo C*.

Proteínas BH3- apenas - A célula tanto produz quanto ativa em resposta a estímulos apoptóticos. Sua função é a inibição das proteínas anti-apoptóticas. Com isso permite atuação das Bax e Bak. (Fig. 11.7).

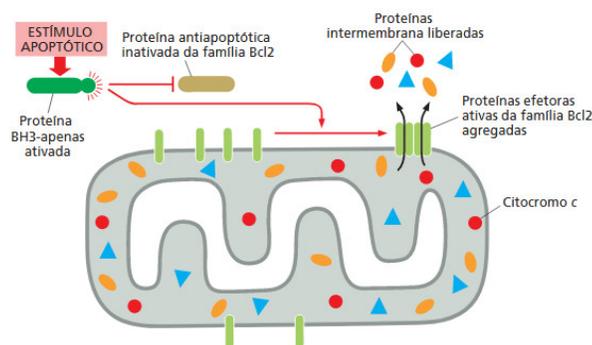


Figura 11.7 - BH3 - apenas ativada bloqueia as proteínas antiapoptóticas, deixando acontecer a liberação das proteínas pró-apoptóticas da intermembrana da mitocôndria. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 18-10 da pg. 1028.

Como exemplo, as proteínas **p53** supressoras de tumor se acumulam chegando no ponto de disparo da ativação da transcrição de genes que codificam proteínas Bcl-2. Evento esse que será aprofundado ao decorrer do curso de medicina.

A Via Extrínseca da Apoptose

De forma resumida, as células possuem receptores na membrana que captam citocinas pró-apoptóticas. Sendo a principal as da família TNF (Fator de Necrose Tumoral). Quando um macrófago detecta problemas na célula, ele libera esse fator que após uma cascata de sinalização ativam caspases e daí segue o processo já descrito.

Necrose celular

Um outro tipo de morte celular é a necrose, que contrariamente à apoptose, é um evento patológico. Traumas mecânicos, fungos, bactérias, agentes químicos, radiação etc. podem lesar células que por possuírem proteínas pró-inflamatórias em seu conteúdo, quando extravasado para o tecido, estimulam células de defesa migrarem para o local. Contudo, essas proteínas também atingem células vizinhas podendo danificá-las por lesão indireta. Esse evento será aprofundado em patologia.

11.9 Ainda que possa ocorrer danos indiretos a outras células, é possível imaginar o porquê desse processo de recrutamento de células de defesa ser importante?

Resposta: _____

Fase M (Mitose)

Nós humanos temos 23 cromossomos advindos da mãe e 23 do pai. Por isso, em função de possuímos dois conjuntos cromossômicos, todas as nossas células somáticas são diploides (2n) (Fig. 11.8).

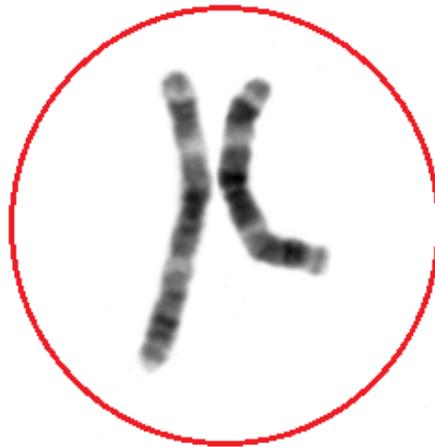


Figura 11.8 - Essa imagem adaptada mostra um cromossomo e seu par homólogo. Eles são semelhantes (mas não iguais) e apresentam genes para as mesmas características. Fonte: National Human Genome Research Institute, domínio público.

Na intérfase, cada cromossomo foi replicado, consistindo agora de duas cromátides irmãs unidas pelo centrômero. Na mitose (Fig. 11.9), as cromátide-irmãs se separam e são puxadas para os polos opostos da célula. Após a citocinese, cada célula-filha ($2n$) mantém a informação genética da célula parental bem como a diploidia.



Dividida em cinco etapas (prófase, metáfase, anáfase, telófase) definidas com base na observação microscópica do comportamento dos cromossomos.

Figura 11.9 – Ilustração simplificada da mitose. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 17-53 da pg. 1005.

A seguir, elencamos as fases da mitose:

PRÓFASE:

- Os cromossomos replicados, unidos à sua cópia (cromátide-irmã) pelo centrômero, começam a se condensar;
- Ocorre a formação do *cinetócoro* (Fig 11.10), placa de proteínas localizada no centrômero que liga o microtúbulo ao cromossomo.
- Os dois centrossomos se dirigem aos polos da célula e formam o fuso mitótico.

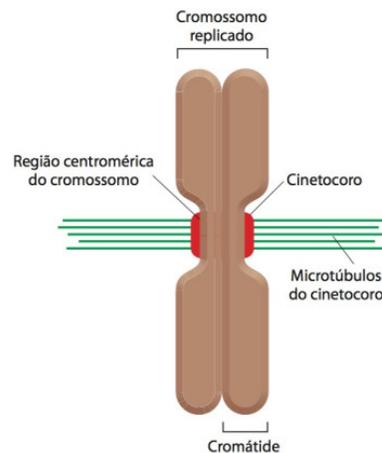


Figura 11.10 – Figura mostrando dois cinetócoros no centrômero do cromossomo, ligados aos microtúbulos. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 17.30 da pg. 998.

PROMETÁFASE

- Desintegração do envoltório nuclear. Os microtúbulos do fuso se ligam ao cinetócoro e começam a movimentação ativa (polimerização e despolimerização) para região central da célula (Fig 11.11).

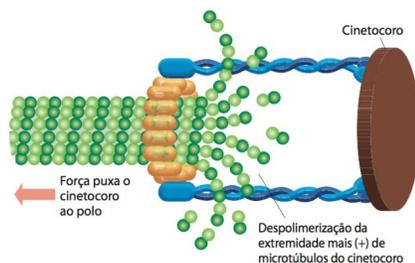


Figura 11.11 – ilustração demonstrando a despolimerização do microtúbulo puxando o cinetócoro ao polo do fuso mitótico. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 17-40 da pg. 1085

METÁFASE

- Os cromossomos são alinhados ao plano equatorial da célula;
- Os microtúbulos do cinetócoro ligam-se às cromátides-irmãs por polos opostos do fuso.
- Máxima condensação dos cromossomos.

ANÁFASE

As cromátides-irmãs são separadas e cada uma de forma sincronizada é lentamente levada ao polo oposto da célula. Essa segregação é feita através tanto do afastamento dos polos do fuso (Anáfase A), quanto a diminuição do tamanho dos microtúbulos do cinetócoro (Anáfase B) simultaneamente.

APC/C, Securina e Separases

Antes da anáfase, a securina e a separase estão ligadas, tornando a separase inativa. O **Complexo Promotor da Anáfase (APC/C)**, inativa a securina por meios de processos bioquímicos dando início a separação das cromátides-irmãs. Assim, a separase cliva uma subunidade da coesina que mantinha as cromátides-irmãs unidas. Dessa forma, torna-se possível a segregação cromossômica (Fig. 11.12).

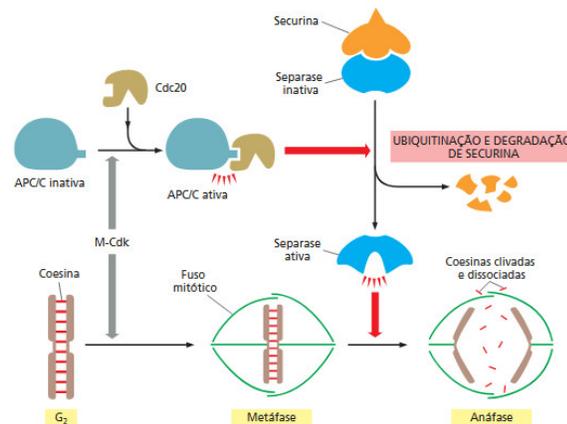


Figura 11.12 - Repare que a degradação da securina que permite a ativação da separase. Ela então age sobre as coesinas, enfraquecendo a ligação entre as cromátides-irmãs. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Células 6^a Edição, figura 17-38 da pg. 993.

TELÓFASE

Os dois conjuntos cromossômicos vão para os polos opostos da célula e se descondensam;

Em cada polo há formação de novo envelope nuclear dos cromossomos com formação de dois núcleos respectivamente.

CITOCINESE

É o evento em que o citoplasma é dividido, formando duas células. Em células animais, acontece via um Anel contrátil de actina com filamentos de miosina que vão estrangulando a membrana da célula até que haja separação.

Exercício: Indique qual fase correspondente se encontra o processo:

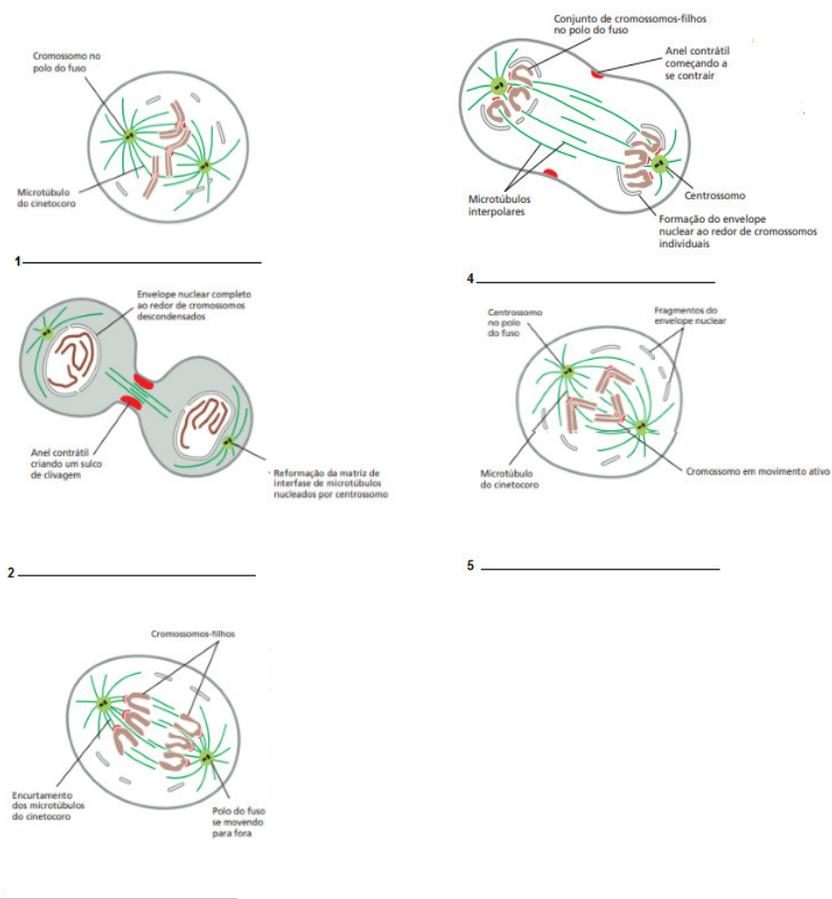


Figura 11.13 – fases do ciclo. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, figuras sem numerações das páginas 980 e 981.

Meiose

Na meiose uma célula diploide origina quatro células haploides (n), em contraste com a mitose que gera duas células diploides ($2n$). Isso tem como função **a formação de gametas** para a reprodução sexuada. Assim, o *gameta masculino* (n) e *gameta feminino* (n) fusionam-se para formação de *novo indivíduo* ($2n$) com a diploidia restaurada.

A meiose apresenta dois ciclos de segregação cromossômica denominados meiose I e II. A meiose I é reducional haja vista que reduz à metade o número de cromossomos da célula inicial. Já a meiose II que mantém o número de cromossomos das células iniciais denomina-se equacional. Cada ciclo apresenta as seguintes etapas:

MEIOSE I

A interfase pré-meiótica promove a duplicação do DNA.

G1, cada cromossomo contém uma única molécula de DNA,

S, ocorre a duplicação do DNA,

G2, cada cromossomo apresenta duas cromátides-irmãs cada uma com uma molécula de DNA.

PRÓFASE I

Diferente da mitose em que os cromossomos homólogos se comportam de forma independente, na meiose eles se reconhecem e se associam intimamente, denominado pareamento dos cromossomos homólogos.

Pareamento: na meiose ocorre a justaposição dos cromossomos de origem materna e paterna (Fig. 11.14) para formar a estrutura bivalente (quatro cromátides próximas).

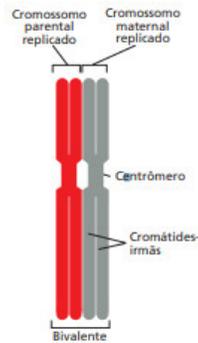


Figura 11.14 – Cromossomos homólogos duplicados e pareados. Imagem retirada do Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig 17-54 da pg. 1006.

O pareamento permite a troca de DNA entre duas sequências de nucleotídeos similares, resultando na troca física entre os cromossomos homólogos de ambos os parentais. Essa troca recíproca de genes, denominado **crossing over** ou **permuta**, aumenta a variabilidade genética.

Na permuta ocorre quebra das fitas duplas no eixo axial das cromátides-irmãs que possibilitam o entrecruzamento entre os DNAs parentais. Para unir as quebras o **complexo de recombinação**, formado por um complexo de proteínas, liga-se ao DNA correspondente no homólogo, fazendo assim a aproximação de seu par (**alinhamento pré-sináptico**). Os centros axiais do cromossomo e seu par se ligam intimamente por um arranjo de filamentos transversos, então se forma o **complexo sinaptonêmico**.

As modificações morfológicas que ocorrem no pareamento tornaram-se a base para a cinco subdivisões da prófase I:

1-Leptóteno

- Início da condensação cromossômica.

2-Zigóteno

- Pareamento dos cromossomos homólogos pelo início da formação do **complexo sinaptonêmico** (Fig11.14).

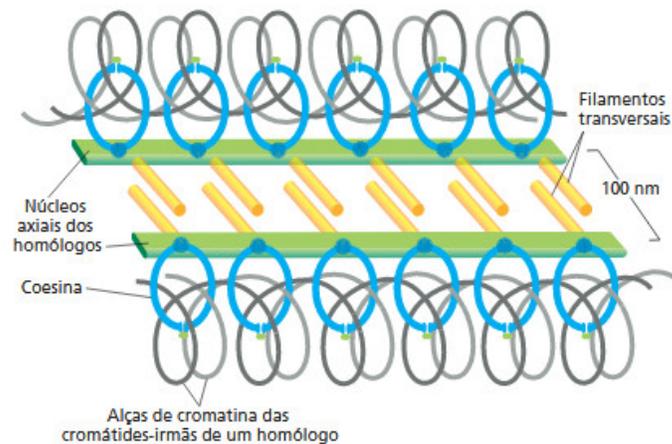


Figura 11.14- Anéis de coesina em azul mantendo unidos as cromátides-irmãs e em amarelo os filamentos transversais ligando os núcleos axiais (partes que interagem) dos homólogos. Esses filamentos diminuem a distância entre os cromossomos-homólogos de 400nm para 100nm. Fonte:Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig. 17-55 da pg. 1007.

2- Paquíteno

Os homólogos estão unidos por sinapses por todo trajeto pelo complexo sinaptonêmico onde os homólogos estão associados e eventos de recombinação genética estão ocorrendo (Fig. 11.15 e 16);

Nos entrecruzamentos formados pelo pareamento são quebradas partes dos cromossomos. Posteriormente, são reinseridos ao cromossomo, porém parte materna pode ir para o cromossomo-homólogo paterno e vice-versa. (**Crossing-over**). Isso permite maior variabilidade genética, uma vez que, ao final, as células-filhas têm o DNA diferente das progenitoras. Esse processo é altamente regulado.

4- Diplóteno

- O complexo sinaptonêmico se desintegra,
- Afastamento dos homólogos que permanecem associados apenas pelos locais onde ocorreram as permutas, denominados **quiasmas**. Ao menos um quiasma será formado e no máximo quatro. A clivagem proteolítica da coesina ao longo dos

braços das cromátides-irmãs separa os braços e finaliza a recombinação, permitindo que os homólogos duplicados se separem na anáfase I.



Figura 11.15 – Possível visualização do quiasma formado após a dissociação do complexo sinaptonêmico. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig 17-54 da pg. 1006.

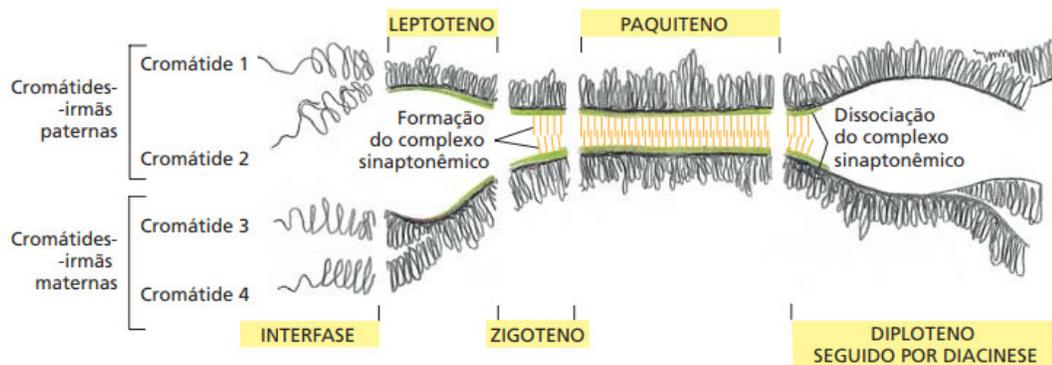


Figura 11.16 – Ilustração do início formação do complexo sinaptonêmico pelas fibras transversais durante o leptóteno e dissociação do complexo durante o diploteno. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig 17-56 da pg. 1007.

5-Diacinese

- Aumenta-se a condensação cromossômica,
- Fragmentação da membrana nuclear e desaparecimento dos nucléolos.

METÁFASE I

Os cromossomos homólogos pareados encontram-se na região mediana da célula

ANÁFASE I

Ocorre a **segregação homóloga**. Esse processo é o que **evita** a separação das cromátides-irmãs quando há o encurtamento do fuso. Dessa forma, o par paterno e o par materno são separados cada um para um polo da célula. Essa diferença da mitose ocorre porque os dois cinetócoros-irmãos se ligam a uma unidade de microtúbulos do mesmo polo.

As coesinas próximo ao cinetócoro não são clivadas. *Apenas na Anáfase II serão clivadas, permitindo a separação das cromátides-irmãs.*

Depois da anáfase I, todo o processo segue parecido com o que acontece na mitose. A diferença está em que os cromossomos replicados estão ainda conectados a suas respectivas cromátides-irmãs.

TELÓFASE I

- Restruturação do envelope nuclear e nucléolos.
- Os cromossomos homólogos, agora separados, se descondensam.

Citocinese

- Formação de duas células-filhas com metade do número cromossômico da célula parental.

Intercinese

MEIOSE II

Ocorre bem mais rápido que a meiose I. As fases Prófase II, Metáfase II, Anáfase II, Telófase II e citocinese ocorrem de maneira semelhante à Mitose. Contudo, como são duas células, cada uma originará mais duas, formando quatro no total no processo.

11.10 Cite uma doença ocorrida por falha na segregação cromossômica e seu respectivo fenótipo:

Resposta:

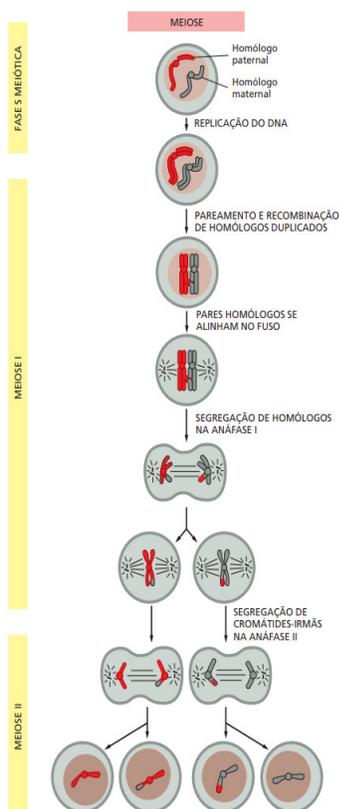


Figura 11.15 – Ilustração simples da meiose. **Observação:** a replicação ocorre na Interfase fase S. Na ilustração é colocado dentro da Mitose e Meiose apenas para facilitar o entendimento. Fonte: Alberts – Biologia Molecular da Célula 6ª Edição, fig 17-53 da pg. 1005.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013;
- ALBERTS, B. *Biologia molecular da célula*. 5ª. ed., Porto Alegre: Artes Medicas, 2010;
- ALBERTS, B. *Biologia molecular da célula*. 6ª. ed., Porto Alegre: Artes Medicas, 2017;
- National Human Genome Reseach Institute, acessado em <http://www.genome.gov/Pages/Hyperion//DIR/VIP/Glossary/Illustration/karyotype.shtml>, maio de 2019.

Questões:

1. Descreva as características de cada fase do ciclo celular.
 - a) a fase S apenas sintetiza DNA
 - b) a mitose é a fase mais demorada do ciclo
 - c) não pode ser interrompido por mecanismos externos e internos
 - d) é importante para manutenção dos tecidos

2. Quais são os microtúbulos que compõem o fuso mitótico e qual é o papel de cada tipo durante a mitose?
 10. Durante a mitose é possível afirmar que:
 - a) não existe mecanismo de reparação do DNA
 - b) toda célula do corpo faz o processo
 - c) origina células com pequenas diferenças no genótipo
 - d) Durante a anáfase há encurtamento dos microtúbulos ligados ao cinetócoro

3. O que significam os checkpoints e porque são importantes?
 11. Em qual fase da mitose o grau de condensação cromossômica atinge o maior valor?
 - a) prófase
 - b) metáfase
 - c) anáfase
 - d) telófase

4. Quais são as principais famílias de proteínas envolvidas no controle do ciclo celular? Quais mecanismos atuam sobre esses complexos de proteínas alterando sua atividade?
 12. Em qual fase mitótica a membrana nuclear é desintegrada?
 - a) prófase
 - b) prometáfase
 - c) metáfase
 - d) telófase

5. De exemplos de falhas nos mecanismos de controle do ciclo e de checagem que estão relacionadas à doenças.

6. A prófase I da meiose é subdividida em fases. Quais são as fases e o que caracteriza cada uma delas?

7. Explique os eventos que possibilitam o aumento da variabilidade genética e qual a importância deste aumento.

8. Qual a importância do complexo Sinaptonêmico?

9. Com relação ao ciclo celular qual alternativa está CORRETA?

13. Complete, "No ciclo celular mitótico a citocinese compreende a/o ..."

- a) Formação das fibras do fuso para promover o afastamento das cromátides-irmãs.
- b) Formação do complexo sinaptonêmico para a aproximação de cromossomos-homólogos.
- c) Processo que ocorre logo após a telófase.
- d) Formação do anel de miosina com filamentos de actina para promover a separação central pra periférica o que faz surgir 2 células.

14. Sobre o controle do ciclo celular é INCORRETO afirmar que:

- a) as proteínas-quinases se ligam à ciclinas para permitir a continuação do ciclo.
- b) existem as proteínas que controlam as próprias Cdk's.
- c) as ciclinas não são degradadas por enzimas do organismo.
- d) a ativação ou inativação de Cdk's ocorre através de fosforilação e desfosforilação.

15. Acontece somente na meiose:

- a) replicação de material genético.
- b) formação das fibras do fuso e movimentação dos centrossomos para os polos opostos da célula.
- c) anéis de actina e filamentos de miosina para promover a citocinese.

d) os cinetócoros de cromátides-irmãs se ligam apenas a uma unidade de microtúbulos do mesmo polo.

16. Ainda sobre a meiose qual a alternativa INCORRETA?

- a) é um processo com duração semelhante com relação a da mitose.
- b) ocorre pareamento dos cromossomos homólogos.
- c) a prófase I é a fase mais prolongada.
- d) o material genético não é replicado na meiose II.
- e) a visualização de quiasmas é possível na fase diplóteno.

17. Sobre os interruptores do ciclo é CORRETO afirmar:

- a) são ativados quando diminui a concentração de alguma ciclina.
- b) um dos mecanismos conhecido são as CKIs (proteínas inibidoras de ckd's) em que se ligam as ciclinas para desativá-las.
- c) são ativados quando os níveis de ciclinas atingem concentrações predeterminadas.
- d) as CKIs agem mais ao final do ciclo.

18. Todas as afirmativas estão corretas, EXCETO:

- a) a M-ciclina tem sua maior concentração durante a fase M.
- b) a S-Cdk é responsável por ajudar desenrolar das fitas de DNA e promover sua replicação.

c) durante a fase S não existe produção de organelas e outros constituintes da célula.

d) quando as condições do ambiente externo e interno estão favoráveis estimulam a ativação das Cdk.

19. Qual assertiva o complexo sinaptoquinêmico não contribui?

a) na fusão entre cromátides-irmãs para que possa ocorrer trocas de genes para viabilizar a recombinação genética.

b) no pareamento dos cromossomos-homólogos com alinhamento pré-sináptico.

c) permitindo a junção das quebras dos DNAs materno e paterno por meio de um arranjo de filamentos transversos.

d) na promoção da melhor adesão das proteínas do fuso às cromátides-irmãs durante a meiose I.

20. Sobre a Anáfase I e II é CORRETO afirmar

a) durante a anáfase II os cromossomos homólogos estão separados em polos opostos.

b) os cinetócoros-irmãos se prendem a fusos opostos na anáfase II.

c) na anáfase I as cromátides-irmãs não são separadas.

d) ao fim da anáfase II a célula se encontra com o mesmo número cromossômico.

21. Acerca da M-CDK, qual é INCORRETA?

a) Induz a montagem do fuso.

b) desintegração do envelope nuclear.

c) é ativada com desfosforilação pela cdc25.

d) induz a duplicação do centrossomo.

22. A apoptose caracteriza-se por:

a) dispersão dos componentes do citosol nos tecidos.

b) a cromatina não se fragmenta.

c) recrutamento de células de defesa.

d) uma sinalização para que a morte celular ocorra.

23. Sobre a apoptose que ocorre em células humanas, marque a alternativa CORRETA:

a) As BH3-apeenas são ativadas assim que começa transcrição do gene p53 e assim bloqueiam os genes anti-apoptóticos da família BCL2.

b) Os sinais apoptóticos não são relevantes para uma célula em que já perdeu sua função.

c) Sem as caspases iniciadoras o processo apoptótico não ocorreria.

d) A família Bcl2 está intimamente ligado a via extrínseca da apoptose.