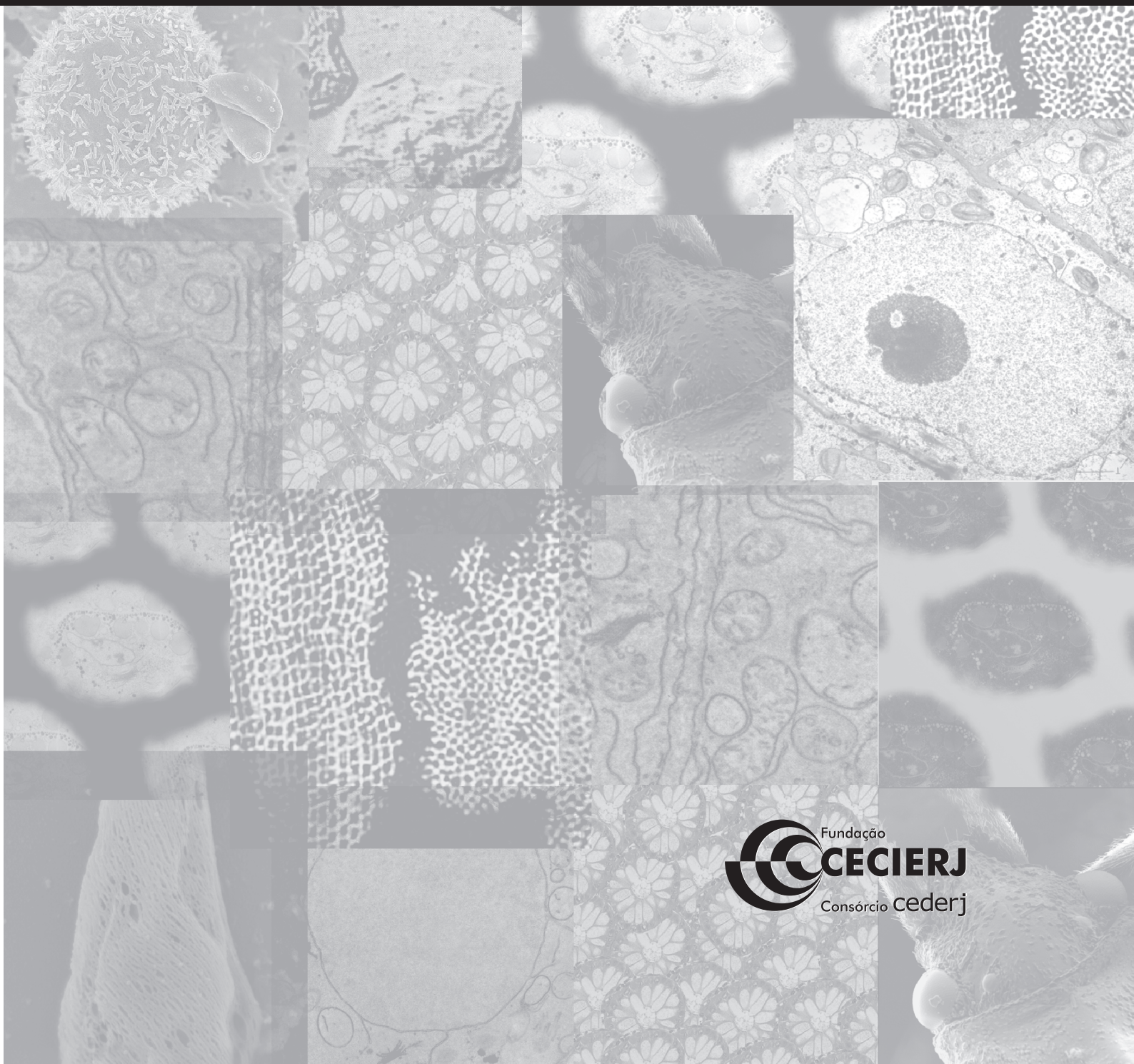


Módulos 4 e 5

Márcia Attias
Narcisa Cunha e Silva

Volume | 3
3ª edição

Biologia Celular I





Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

Biologia Celular I

Volume 3 - Módulos 4 e 5
3ª edição

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva



**GOVERNO DO
Rio de Janeiro**

**SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA**

Ministério
da Educação



Apoio:



FAPERJ

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo
à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Rua Visconde de Niterói, 1364 – Mangueira – Rio de Janeiro, RJ – CEP 20943-001

Tel.: (21) 2299-4565 Fax: (21) 2568-0725

Presidente

Masako Oya Masuda

Vice-presidente

Mirian Crapez

Coordenação do Curso de Biologia

UENF - Milton Kanashiro

UFRJ - Ricardo Iglesias Rios

UERJ - Cibele Schwanke

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves

Ana Tereza de Andrade

Márcio Paschoal

COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Cyana Leahy-Dios

REVISÃO TÉCNICA

Ana Tereza de Andrade

Marta Abdala

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Carmen Irene Correia de

Oliveira

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Andréa Dias Fiães

Vera Lopes

COORDENAÇÃO DE ILUSTRAÇÃO

Eduardo Bordoni

ILUSTRAÇÃO

Equipe CEDERJ

CAPA

David Amiel

PRODUÇÃO GRÁFICA

Andréa Dias Fiães

Fábio Rapello Alencar

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

A885b

Attias, Márcia.

Biologia celular I. v.3 / Marcia Attias.

– 3.ed. – Rio de Janeiro : Fundação CECIERJ, 2006.

169p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-7648-029-8

1. Citoesqueleto. 2. Microfilamentos. 3. Mitocôndria.

4. Cloroplastos. I. Silva, Narcisa Cunha e. II. Título.

CDD: 515

2008/1

Referências Bibliográficas e catalogação na fonte, de acordo com as normas da ABNT.

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador
Sérgio Cabral Filho

Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia
Alexandre Cardoso

Universidades Consorciadas

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**
Reitor: Almy Junior Cordeiro de Carvalho

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Vieiralses

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Roberto de Souza Salles

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Aloísio Teixeira

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Motta Miranda

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**
Reitora: Malvina Tania Tuttman

SUMÁRIO

Módulo 4

Aula 21 – Organização Geral do Citoesqueleto _____ **7**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 22 – Os Filamentos Intermediários _____ **15**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 23 – Microtúbulos _____ **27**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 24 – Microfilamentos _____ **45**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 25 – Tráfego Intracelular de Vesículas _____ **69**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Módulo 5

Aula 26 – Mitocôndria _____ **89**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 27 – Mitocôndria II _____ **109**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 28 – Cloroplastos I: Características principais. Membranas e compartimentos _____ **125**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 29 – Cloroplastos II: O complexo antena. Fases dependente e independente de luz _____ **135**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Aula 30 – Peroxissomos _____ **151**

Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva

Gabarito _____ **161**

Organização Geral do Citoesqueleto

AULA 21

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer a existência de um sistema de suporte e motilidade para as células;
- Listar e definir os principais tipos de movimentos celulares;
- Caracterizar os tipos de filamento que compõem o citoesqueleto.

INTRODUÇÃO

Já conhecemos vários dos aspectos gerais da organização e do funcionamento das células. Nas aulas anteriores também usamos diversos tipos celulares para exemplificar os fenômenos que estavam sendo estudados. Assim, acreditamos que você seja capaz de identificar os tipos celulares reproduzidos a seguir (**Figuras 21.1 a 21.3**) e fazer algum comentário sobre as funções deles. Vamos lá!

Oba, vídeo!

O pólo dispõe de um ótimo material em vídeo sobre o citoesqueleto. Você pode utilizá-lo tanto durante quanto após a leitura do material impresso. O vídeo *Celebration* ilustra vários tipos de movimentos celulares. No CD-ROM do *Molecular Cell Biology* e do *Molecular Biology of the Cell* há animações e vídeos sobre a dinâmica de formação de microfilamentos e microtúbulos e movimentos celulares. Dúvidas? Consulte o seu tutor.

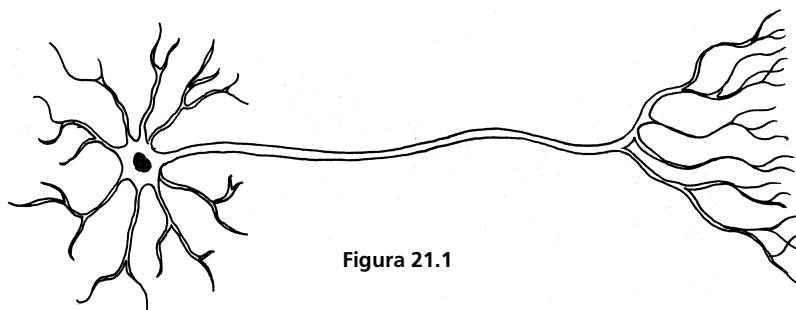


Figura 21.1

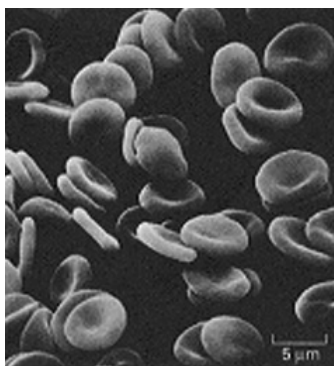


Figura 21.2

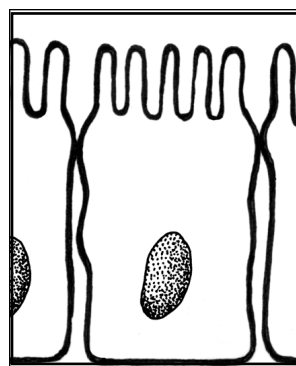


Figura 21.3

Acreditamos que não houve qualquer dificuldade em identificar corretamente as células. Também podemos apostar que o critério usado na identificação foi a *forma* dessas células. A propósito, as células são: 21.1, 21.2, 21.3.

O que será que mantém a forma desses tipos celulares? Se você respondeu “a membrana”, pare um pouquinho e pense: será que uma bicamada lipídica fluida seria capaz de sustentar a forma de uma célula? E as organelas internas, não tenderiam a se depositar no “fundo” da célula? Observe a **Figura 21.4**.

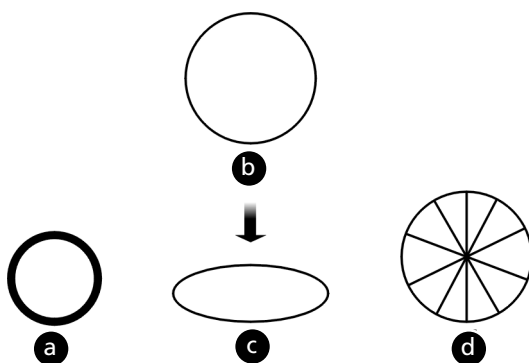


Figura 21.4: Uma célula pequena e com uma parede semi-rígida (a) sustenta-se sem alterar substancialmente sua forma. Esse é o modelo de sustentação de bactérias e outros procariotos. A célula em (b) tende a se acomodar ao substrato e tomar a forma de (c). Porém, se houver um sistema interno de sustentação, a forma é mantida, mesmo com um tamanho relativamente grande (d).

Tamanho é documento?

Se pensarmos em termos evolutivos, forma e tamanho só passaram a constituir “problemas” para os eucariontes. Os procariotes, isto é, as bactérias, são células pequenas e não compartimentalizadas. A forma da célula é mantida pela parede celular bacteriana (**Figura 21.4a**). Também devido a seu tamanho, a distância entre dois pontos da célula procariote nunca é muito grande, de modo que as moléculas requeridas para uma determinada função sempre estarão acessíveis.

Bem, podemos então concluir que o modelo de célula eucarionte atual requer um sistema que confira sustentação e forma. Esse sistema é formado por filamentos protéicos e se chama **citoesqueleto**.

O citoesqueleto não apenas confere a **forma** característica às células, mas também é responsável por todos os seus **movimentos**. Veja a seguir.

PARADINHA ESPERTA

Do que você pode se lembrar quando falamos de movimentos celulares? Execute alguns movimentos (espreguice-se, bata palmas, vá tomar um copo d’água, dê uma piscada, etc.), e procure fazer uma lista com movimentos que as células executam. Só vá ao final da aula para ver o resultado depois de tentar.

Forma, sustentação, movimento

Além de manter a forma das células, o citoesqueleto é responsável pela capacidade das células se deslocarem no meio em que vivem, seja através da emissão de projeções, como as amebas e as células do tecido conjuntivo, seja por cílios e flagelos, como vários protozoários ou os espermatozoides. Mesmo as células que permanecem fixas, como os neurônios, estão constantemente emitindo finas projeções de membrana em sua superfície para fazer ou desfazer contatos com as células vizinhas. O citoesqueleto determina a distribuição das estruturas intracelulares e impede que as células desabem sob seu próprio peso (**Figura 21.4c**). As células musculares são especializadas em contrair-se num determinado sentido e mesmo nas células que nos parecem “imóveis” há um intenso tráfego citoplasmático de organelas e vesículas.

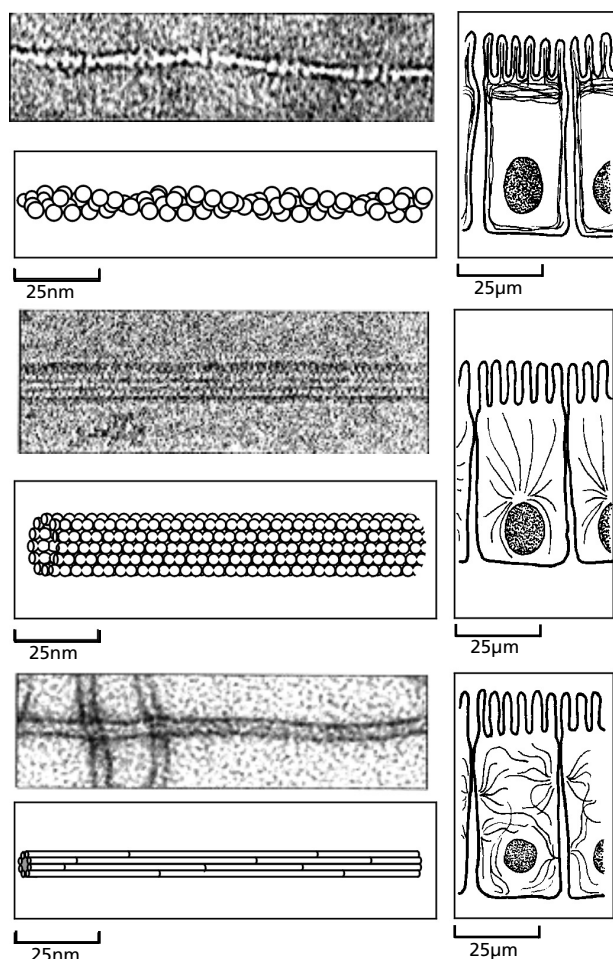
Os componentes do citoesqueleto

Três tipos de filamento compõem o citoesqueleto das células eucariontes:

- microfilamentos;
- microtúbulos;
- filamentos intermediários.

A Figura 21.5 resume as principais características de cada um deles.

Os microfilamentos são formados pela proteína **actina**, e os microtúbulos, pela proteína **tubulina**. Ambas se mantiveram bastante conservadas ao longo da evolução dos eucariontes. Já os **filamentos intermediários** são proteínas fibrosas de natureza diversa, de acordo com o tipo celular.



Microfilamentos são os mais finos (5-9nm de diâmetro). São flexíveis e formam feixes paralelos ou redes na parte mais periférica da célula, embora se distribuam por todo o citoplasma.

Microtúbulos são muito mais rígidos que os microfilamentos. Partem sempre de uma região definida do citoplasma: o centrôssomo ou centro organizador de microtúbulos (COMt). As subunidades de tubulina formam cilindros ocos de 25nm de diâmetro externo.

Filamentos intermediários são formados por proteínas fibrosas e medem cerca de 10nm de espessura. São os mais estáveis e conferem à célula resistência mecânica. São formados por várias proteínas diferentes, de acordo com o tipo celular.

Figura 21.5: Cada tipo de filamento é mostrado tal como é visto por contrastação negativa ao microscópio eletrônico de transmissão, num esquema que mostra a disposição das proteínas que os formam e sua distribuição em uma célula epitelial do intestino.

Por que três tipos de filamento?

Microfilamentos, microtúbulos e filamentos intermediários possuem cada um características próprias de resistência a tensões, flexibilidade e estabilidade. Todos os filamentos do citoesqueleto são formados através da polimerização (vide glossário) de proteínas. Todos podem polimerizar-se e despolimerizar-se rapidamente; entretanto, os filamentos intermediários podem suportar níveis de tensão e deformação que causariam a ruptura de microfilamentos e microtúbulos (Figura 21.6).

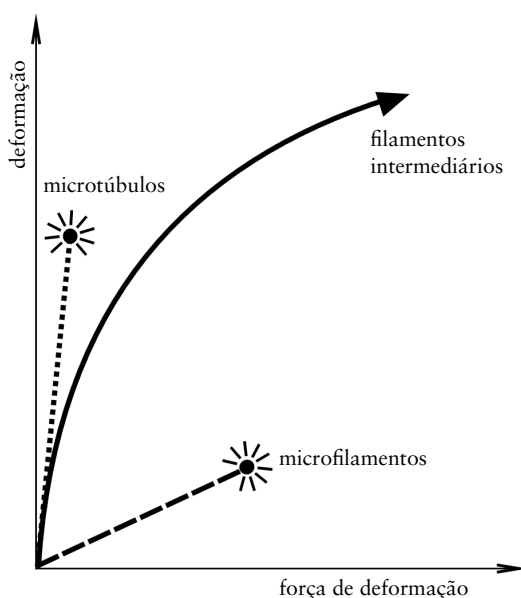


Figura 21.6: O gráfico analisa a capacidade de suportar deformação dos filamentos do citoesqueleto em função de uma força aplicada ao filamento. Os filamentos que melhor combinam força e flexibilidade são os filamentos intermediários. Os microtúbulos se deformam sob pequenas forças, mas logo se partem e os microfilamentos suportam melhor a força sobre eles, mas pouco se deformam.

Os microtúbulos determinam a forma geral da célula e a disposição de suas organelas. A posição relativa do núcleo, do complexo de Golgi, das mitocôndrias e ainda outras estruturas citoplasmáticas depende da disposição dos microtúbulos (Figura 21.7). Todos os microtúbulos partem de uma região definida, o **centro organizador de microtúbulos (COMt)**, ou **centrossomo**.

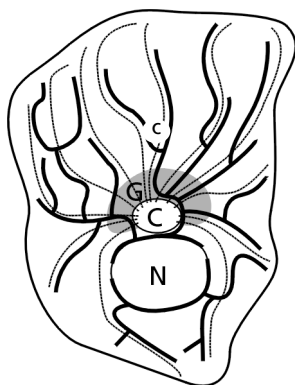


Figura 21.7: O formato geral da célula resulta da distribuição dos microtúbulos (linhas pontilhadas). Estes partem de uma região específica junto ao núcleo (N), o centrossomo (C). Sua disposição determina a posição do complexo de Golgi (G) e do retículo endoplasmático (linhas espessas).

A disposição dos filamentos intermediários também acompanha a dos microtúbulos. Os microfilamentos se distribuem por todo o citoplasma, mas principalmente nas regiões periféricas, o chamado córtex celular. Projeções finas da membrana, estáveis como as microvilosidades das células do epitélio intestinal (Figura 21.5) ou dinâmicas como os filopódios de uma ameba (Figura 21.8), dependem da formação de feixes de actina no seu interior.

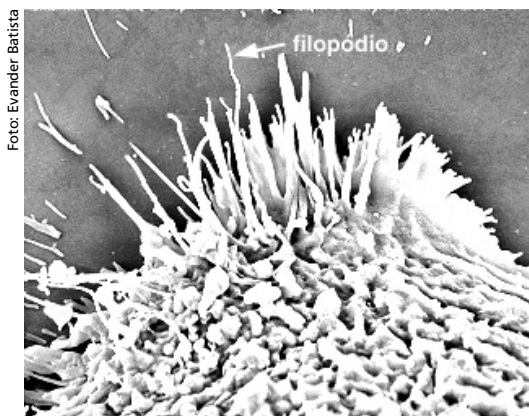


Figura 21.8: O parasita intestinal Entamoeba histolytica adere às superfícies e se desloca emitindo filopódios que são preenchidos por filamentos de actina.

A combinação destes três tipos de filamento confere a cada tipo de célula o balanço entre estabilidade e dinâmica, além de resistência mecânica, todos fatores necessários à sua sobrevivência e atividade.

RESUMO

O citoesqueleto é um sistema de filamentos responsável pela sustentação da célula, conferindo-lhe a forma e determinando a disposição interna das organelas. Os movimentos celulares são feitos através da reorganização dos filamentos do citoesqueleto. Microfilamentos, microtúbulos e filamentos intermediários são os três tipos de filamento que compõem o citoesqueleto. Todos são polímeros de proteínas. Enquanto microtúbulos e microfilamentos são constituídos, respectivamente, pelas proteínas tubulina e actina, várias proteínas diferentes podem constituir os filamentos intermediários. Enquanto microtúbulos e microfilamentos estão mais associados a movimentos celulares, os filamentos intermediários conferem maior resistência e sustentação às células.

EXERCÍCIOS DE AUTO-AVALIAÇÃO

1. Por que as células eucariontes não podem prescindir de um citoesqueleto?
2. Por que os procariontes não precisam de um citoesqueleto? Que estrutura é responsável pela manutenção da forma das bactérias?
3. Quais as funções do citoesqueleto?
4. Quais os componentes do citoesqueleto?
5. Caracterize cada um dos tipos de filamento do citoesqueleto quanto a:
 - a. Diâmetro
 - b. Proteína característica
 - c. Estabilidade
 - d. Resistência
 - e. Localização na célula

Os Filamentos Intermediários

AULA 22

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender a organização estrutural dos filamentos intermediários;
- Compreender a diversidade e as funções das proteínas que formam os filamentos intermediários.

INTRODUÇÃO

Como já vimos na aula 21, o sucesso do modelo eucarionte de célula se deve, em grande parte, à existência do citoesqueleto, sistema dinâmico de filamentos protéicos que confere às células forma, motilidade, resistência e suporte das estruturas intracelulares. Três classes de filamentos formam o citoesqueleto: os microfilamentos, os microtúbulos e os filamentos intermediários, assunto desta aula.

Os **filamentos intermediários** conferem às células resistência mecânica ao esticamento. Essa propriedade é importante para os tecidos de modo geral e particularmente para aqueles que normalmente são submetidos a tensão e compressão, como as células musculares, cardíacas e a pele (**Figura 22.1**).



Figura 22.1: A força e a resistência de um organismo complexo dependem da força e resistência das células que o compõem.

Dados históricos

Estes filamentos foram denominados “intermediários” por terem sido descritos pela primeira vez em células musculares lisas, onde seu diâmetro ($\sim 10\text{nm}$) se situava entre o dos microfilamentos de actina e o dos feixes espessos de miosina. Se, por um lado, a denominação foi incorreta, na medida em que os feixes de miosina não são filamentos, por uma feliz coincidência, quando comparados com os microfilamentos e os microtúbulos (os dois outros tipos de filamento do citoesqueleto), eles também apresentam uma espessura intermediária, o que torna a designação correta.

Caracterização

Quando comparados aos demais elementos do citoesqueleto (microtúbulos e microfilamentos), são os mais resistentes e duráveis: em células submetidas a tratamento com detergentes não iônicos e soluções concentradas de sais, o citoesqueleto é praticamente todo destruído, com exceção dos filamentos intermediários. Nas células de nossa pele, que naturalmente se descamam, também só existem praticamente os filamentos intermediários.

Os filamentos intermediários são encontrados no citoplasma de quase todas as células eucariontes, embora haja exceções, como as hemácias. Tipicamente formam uma rede no citoplasma, envolvendo o núcleo e se distribuindo para a periferia. Frequentemente se ancoram à membrana plasmática em áreas de junção célula-célula (desmossomas) ou célula-lâmina basal (hemidesmossomas). Há também um tipo de filamento intermediário que se distribui na face interna do envoltório nuclear, formando a *lâmina nuclear*.

Estrutura

Já comentamos na aula 21 que, diferentemente dos microfilamentos e microtúbulos, os filamentos intermediários são formados por proteínas fibrilares. Estas formam dímeros em que as duas extremidades NH_2 das moléculas participantes se alinham na mesma direção. Esses dímeros dão origem a tetrâmeros “ponta-cabeça”, isto é, as extremidades NH_2 de um dímero se alinham com as extremidades COOH do outro. Os tetrâmeros assim formados se “encaixam” com outros tetrâmeros, formando longos filamentos helicoidais que se justapõem e se retorcem, formando cordões muito resistentes (**Figura 22.2**). Os filamentos assim formados, ao contrário de microtúbulos e microfilamentos, não são polarizados, isto é, suas extremidades são equivalentes. Essa organização torna os filamentos intermediários comparáveis aos cordões dos sapatos: ao mesmo tempo que podem ser dobrados ou enrolados com facilidade, são muito resistentes e difíceis de arrebentar quando puxados. A espessura de um filamento intermediário corresponde a oito tetrâmeros, isto é, 32 unidades da proteína inicial.

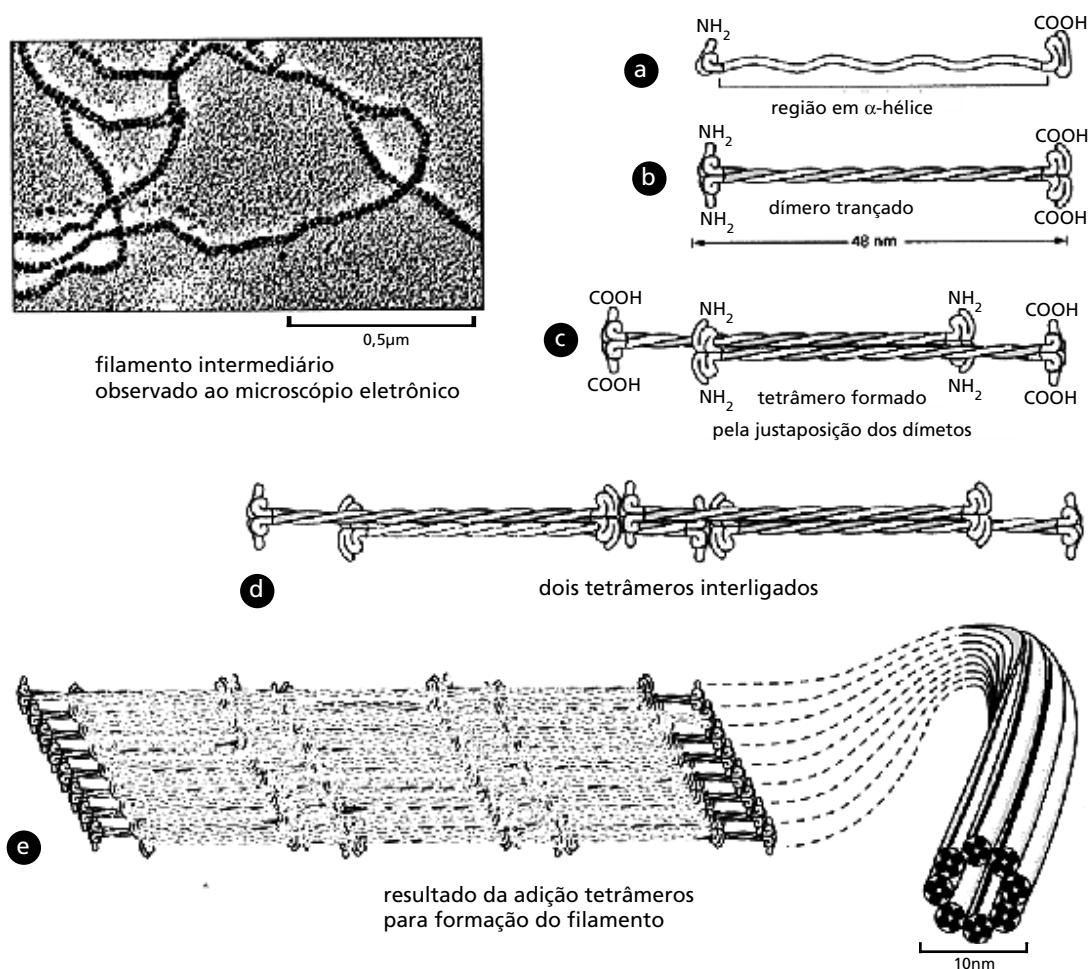


Figura 22.2: Os filamentos intermediários são formados pela adição de tetrâmeros — grupos de 4 moléculas fibrilares — que se organizam de modo que as extremidades do filamento são idênticas.

Dinâmica

Comparados a microtúbulos e microfilamentos, sabe-se relativamente pouco sobre a dinâmica de polimerização/despolimerização desses filamentos. Entretanto, embora eles sejam responsáveis pela estabilidade mecânica das células, são claramente estruturas dinâmicas, que se reorganizam constantemente, aumentando ou diminuindo seu comprimento e mudando sua localização na célula. Acredita-se que a adição de um grupo fosfato à extremidade amino (NH_2) da proteína formadora de um filamento promova a desassociação desta do filamento.

Diversidade

Diferentemente dos microtúbulos e dos microfilamentos, formados pelas proteínas tubulina e actina respectivamente, cada tipo celular possui filamentos intermediários específicos. Dentre os tipos de proteínas que formam os filamentos intermediários, as *queratinas* formam o maior grupo. Mais de 20 tipos de queratina já foram identificadas em células epiteliais humanas e outros 10 tipos em cabelos e unhas. Cada tipo de epitélio possui determinados tipos de queratina.

Filamentos intermediários são, praticamente, o que resta de nós após a morte

Além de dentes e ossos, as sepulturas antigas contêm, em geral, restos de pele, cabelos e unhas dos falecidos. Nessas estruturas, a queratina é estabilizada por pontes de dissulfeto entre os filamentos, o que confere uma grande estabilidade a essa proteína.

O ditado “do pó vieste, ao pó retornarás” é bem mais do que filosofia. Grande parte da poeira que se acumula nas nossas casas é formada por células mortas que se descamam naturalmente de nossa pele. Dessas células já mortas, resta apenas uma rede de queratina que serve de alimento para ácaros microscópicos que coabitam conosco e são causadores de vários tipos de alergia.

As queratinas são especialmente abundantes nas células epiteliais de locais sujeitos a estresse mecânico (no focinho dos bovinos e suínos, no nosso calcanhar etc.). Nos *desmossomas* e *hemidesmossomas* dos epitélios, os filamentos intracelulares de ancoragem são de queratina, ou seja, o “cabeamento” para a transdução da tensão aplicada ao tecido é feito por estes filamentos (desmossomas e hemidesmossomas são estruturas que se formam entre duas células (os primeiros) ou entre uma célula e o tecido conjuntivo (os segundos), para aumentar a adesão entre elas. Você estudará mais sobre eles em Biologia Celular II).

Os filamentos intermediários podem ajudar no tratamento do câncer

A célula cancerosa perde muitas das características da célula normal da qual se originou; entretanto, os filamentos intermediários característicos de determinado tipo celular permanecem presentes mesmo quando este se torna canceroso. Ao identificar os tipos de filamento intermediário das células de um tumor, o médico pode saber em que tipo celular ele se originou e com isso escolher o melhor tratamento, evitando usar drogas ou outras terapias que não seriam eficazes para aquele tipo de câncer.

Indivíduos que possuem um gene para queratina mutado produzem filamentos incapazes de suportar as tensões que, ao se romperem, levam à formação de bolhas. Essa anomalia, bastante grave, é conhecida como *epidermolysis bullosa* (Figura 22.3).

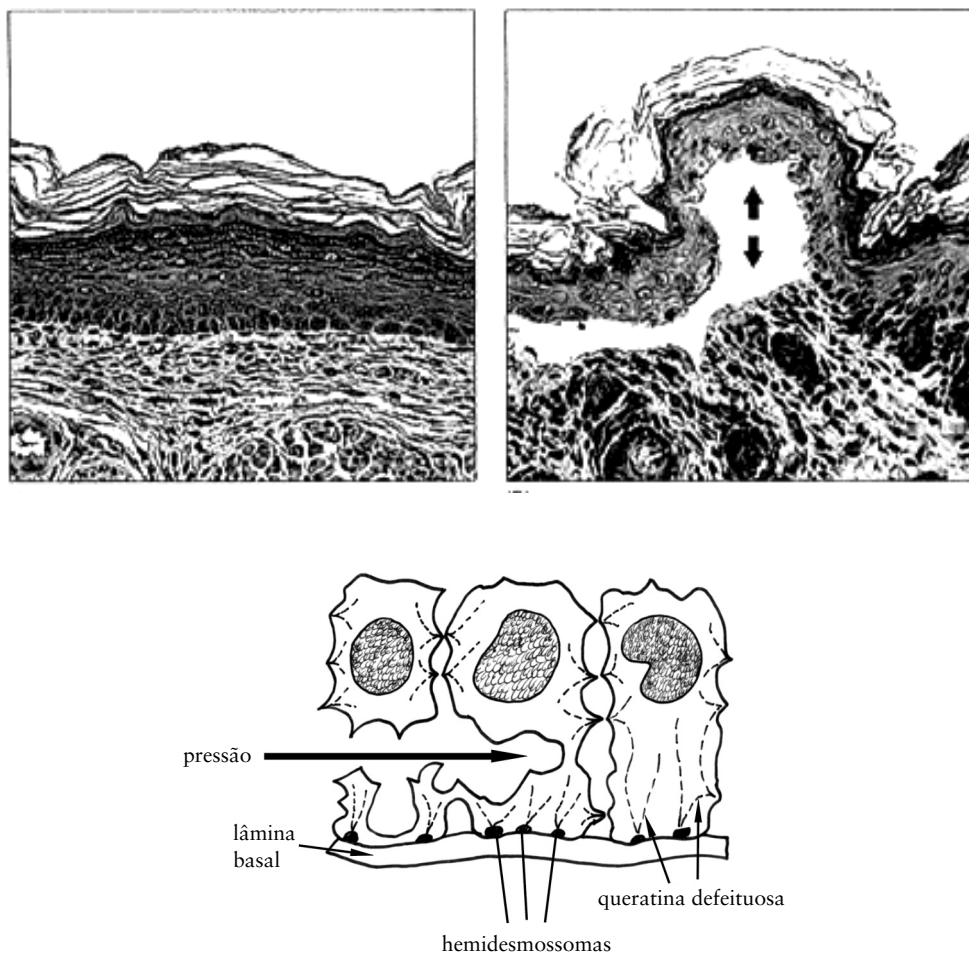


Figura 22.3: Na anomalia genética conhecida como *epidermolysis bullosa*, os filamentos de queratina são muito frágeis, rompendo-se. O acúmulo de fluido extracelular sob a pele forma bolhas, já que a pressão exercida pelo fluido não é suportada pela adesão da pele ao tecido subcutâneo.

Mutações em outros tipos de queratina podem provocar doenças relacionadas ao epitélio da boca, do esôfago e da córnea, todas provocando o aparecimento de bolhas.

Neurofilamentos

Enquanto os filamentos de queratina são característicos de células epiteliais, os **neurofilamentos** são tipicamente encontrados nos neurônios (Figura 22.4).

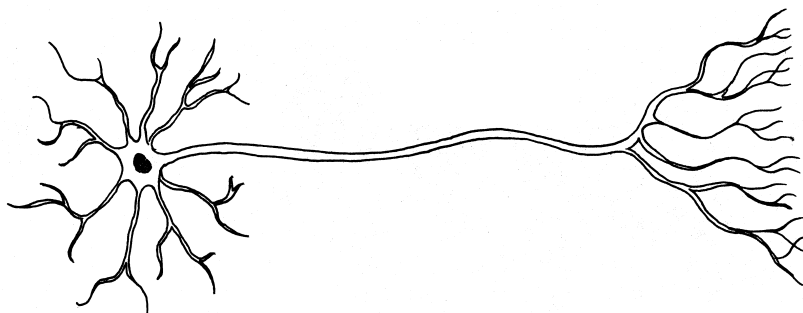


Figura 22.4: O axônio é um prolongamento do corpo celular do neurônio através do qual são transportadas as vesículas contendo os neurotransmissores. Alguns podem chegar a medir 1m ou mais, dependendo do tamanho do animal.

Os neurofilamentos se distribuem ao longo dos axônios, contribuindo tanto para a sustentação destes quanto para o transporte axonal. Alguns neurofilamentos atingem grande comprimento e sua estrutura difere da de outros filamentos intermediários pela presença de “espaçadores” que mantêm os neurofilamentos paralelamente dispostos ao longo do axônio (Figura 22.5).

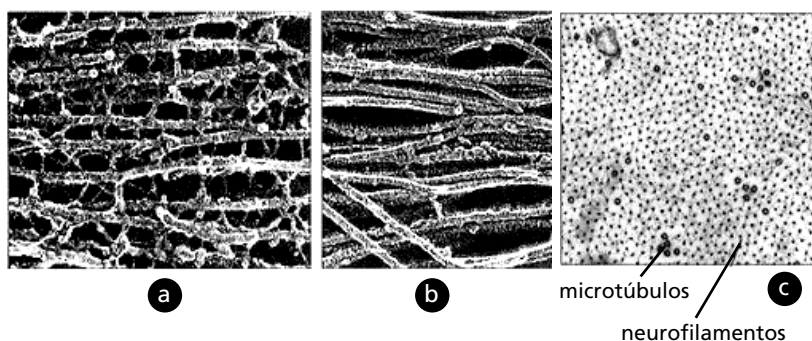


Figura 22.5: Os neurofilamentos (a) possuem “pontes” que os mantêm equidistantes ao longo de sua extensão. Outros filamentos intermediários (b) não possuem esses espaçadores. (c) Num corte transversal de um axônio vê-se um grande número de neurofilamentos regularmente espaçados e uns poucos microtúbulos dispersos.

Já foram identificadas três proteínas formadoras de neurofilamentos — uma de baixo peso molecular (NF-L), outra de peso molecular médio (NF-M) e a terceira de alto peso molecular (NF-H). Durante o crescimento da fibra nervosa, novas subunidades são adicionadas a ambas as extremidades dos neurofilamentos já existentes, aumentando seu comprimento. Quando o axônio termina seu crescimento e se conecta a uma **CÉLULA EFETORA**, seu diâmetro ainda pode aumentar cerca de cinco vezes, aumentando a velocidade com que os estímulos elétricos serão transmitidos. Por outro lado, a proliferação excessiva de neurofilamentos pode prejudicar o fluxo dos neurotransmissores, levando a doenças neurológicas (veja Box).

CÉLULA EFETORA

É aquela que efetivamente responde a um estímulo. No caso de uma glândula, a resposta é a secreção de uma substância; no caso do músculo, a contração.

Em exagero, tudo faz mal

Na doença degenerativa conhecida como esclerose amiotrófica lateral ou doença de Lou Gehrig (um esportista norte-americano vitimado por ela), ocorre acúmulo de neurofilamentos no interior do axônio, o que dificulta e termina por impedir o transporte de neurotransmissores para a extremidade do axônio onde eles são utilizados.

Proteína ácida glial, periferina, vimentina e desmina

Em outras células do sistema nervoso que não os neurônios, os filamentos intermediários são formados pela **proteína ácida glial** (GFAP). Essas células, coletivamente chamadas *glia*, compreendem os *astrócitos*, as *células de Schwann* e outros tipos celulares responsáveis pela imunidade, nutrição e proteção mecânica dos neurônios.

Nos neurônios do sistema nervoso periférico, foi identificado mais um tipo de filamento intermediário, formado pela proteína **periferina**, sobre o qual pouco se sabe.

A proteína ácida glial e a periferina fazem parte de um grupo de proteínas formadoras de filamentos intermediários que também inclui a **vimentina** e a **desmina**. A vimentina é característica de **CÉLULAS DE ORIGEM MESENQUIMAL**. Esse tipo de filamento intermediário é encontrado na maior diversidade de tipos celulares. Sua distribuição geralmente acompanha a dos microtúbulos. Já foi inclusive identificada uma proteína, a **plectina**, que forma pontes entre os filamentos de vimentina e os microtúbulos. Os filamentos de vimentina ajudam a sustentar a membrana plasmática e a definir a posição do núcleo e outras organelas. Alguns tipos de epitélio podem ter simultaneamente vimentina e queratina.

Já a desmina é encontrada em células musculares (esqueléticas, lisas e cardíacas). No músculo esquelético seu papel é contribuir para estabilizar as unidades contráteis, os sarcômeros.

Os tecidos que possuem **CÉLULAS DE ORIGEM MESENQUIMAL** são as cartilagens, os tecidos conjuntivo e ósseo, o sangue e o endotélio, epitélio que reveste os vasos sanguíneos.

Miócitos unidos jamais serão vencidos!

A importância dos filamentos intermediários para a integridade dos tecidos pode ser bem compreendida se analisarmos a estrutura e o funcionamento do músculo cardíaco. Formado por células uninucleadas que se contraem em sequência, esse tecido deve exercer uma pressão eficiente sobre o sangue nas câmaras cardíacas para bombeá-lo. É natural portanto, que existam entre as células cardíacas muitas junções formadas por filamentos de desmina (**Figura 22.6**).

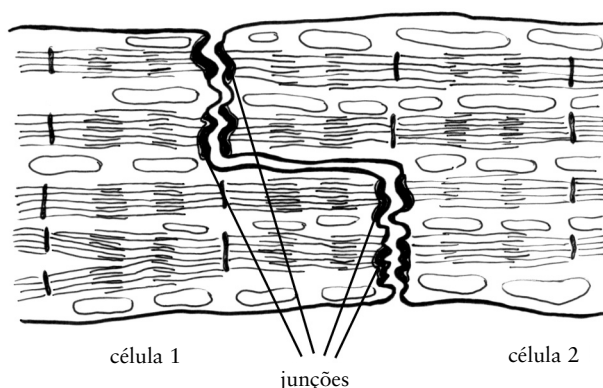


Figura 22.6: Junções que reforçam a adesão entre as células musculares cardíacas. Filamentos intermediários formados por desmina participam dessas estruturas.

As laminas nucleares

Não, não está faltando um acento circunflexo em lamina nuclear. Diferentemente dos filamentos intermediários exemplificados até aqui, todos localizados no citoplasma das células e formando arranjos tridimensionais, as laminas nucleares (pronuncia-se *lamína*) formam uma malha na superfície interna do envoltório nuclear — a **lâmina nuclear** (Figura 22.7). Essa rede de filamentos intermediários reforça o envoltório nuclear e se despolimeriza a cada divisão celular, refazendo-se depois, assim como o próprio envoltório.

A organização e a desorganização da lâmina nuclear são controladas por proteínas quinases que fosforilam as laminas, enfraquecendo as ligações entre elas e causando o colapso da lâmina nuclear. A posterior defosforilação dessas proteínas — ao final da mitose — leva à recomposição da lâmina. Coincidência ou não, nas células que sofrem mitose fechada (sem o desaparecimento do envoltório nuclear), não foi identificada a presença desses filamentos. Você vai saber mais sobre esse assunto em Biologia Celular II.

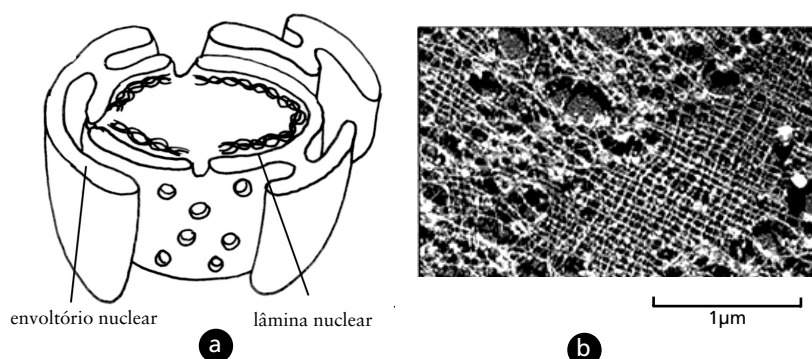


Figura 22.7: Os filamentos formados por laminas se dispõem como uma rede entre a face interna do envoltório nuclear e a cromatina (a). Formam uma rede bidimensional (b).

Grupos e principais características dos filamentos intermediários.

Tabela 22.1

Tipo de filamento	Proteínas componentes	Localização celular
Queratina	Queratinas tipo I (ácidas) Queratinas tipo II (básicas)	Células epiteliais e seus derivados (cabelos, unhas, pêlos, cascos)
Neurofilamento	NF-L (baixo peso molecular) NF-M (médio peso molecular) NF-H (alto peso molecular)	neurônios
Vimentina	Vimentina	Tecido conjuntivo, cartilaginoso, células do sangue
	Desmina	Músculo
	Proteína ácida glial (GFAP)	Células da glia (astrócitos, células de Schwann, microglia)
	Periferina	Alguns neurônios periféricos
Lamina	Laminas A, B e C	Revestimento interno do envoltório nuclear (lâmina)

RESUMO

Os filamentos intermediários são formados por proteínas fibrilares que se organizam em tetrâmeros onde as duas extremidades são idênticas.

Os filamentos intermediários não são polarizados, isto é, suas duas extremidades são idênticas. Novos tetrâmeros podem ser acrescentados ou subtraídos de ambas as extremidades.

Embora se comportem dinamicamente, os filamentos intermediários são mais estáveis que microfilamentos e microtúbulos.

Os filamentos intermediários são mais resistentes à deformação que microfilamentos e microtúbulos.

As principais funções dos filamentos intermediários estão ligadas à sustentação da membrana plasmática, do envoltório nuclear e ao posicionamento das organelas no citoplasma.

Os filamentos intermediários conferem aos tecidos muscular e epitelial resistência às tensões.

Os filamentos intermediários podem ser agrupados em “famílias” de acordo com a tabela 22.1.

Os filamentos intermediários podem formar conexões com os microtúbulos, acompanhando sua distribuição celular.

EXERCÍCIOS DE AUTO-AVALIAÇÃO

1. Diferencie uma proteína fibrilar de uma globular, fazendo um esquema de cada tipo.
2. Que tipo de proteína forma os filamentos intermediários: fibrilar ou globular?
3. O que é um tetrâmero? Por que os tetrâmeros que formam os filamentos intermediários não são polarizados? Como as proteínas poderiam se organizar para formar tetrâmeros polarizados?
4. Em que tipos celulares são encontrados filamentos de queratina? Que outras estruturas são formadas por queratina?
5. Quais os tipos de filamentos intermediários encontrados nas células do sistema nervoso (neurônios, células gliais e neurônios periféricos)?
6. Como os filamentos intermediários podem ser úteis no diagnóstico do câncer?
7. De que tipos celulares são característicos os filamentos de vimentina e desmina, respectivamente?

8. Qual a doença associada ao aumento excessivo de neurofilamentos?
9. Por que as lamínas nucleares devem se despolimerizar durante a divisão mitótica?
O que ocorre durante a divisão nas células que não possuem lamínas?
10. Com os conhecimentos adquiridos nesta aula, comente a frase: "do pó vieste e ao pó retornarás".

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- A organização estrutural dos microtúbulos;
- As funções desempenhadas pelos microtúbulos numa célula;
- O conceito de instabilidade dinâmica;
- O conceito de centro organizador de microtúbulos;
- A diversidade e as funções das principais drogas que interagem com microtúbulos;
- A diversidade e as funções das proteínas que se associam aos microtúbulos.

INTRODUÇÃO

Vimos na aula 22 que os microtúbulos são filamentos longos e ocos, responsáveis pela formação de estruturas transitórias, como o fuso mitótico, ou permanentes, como os flagelos. A forma geral e a disposição do núcleo e das organelas celulares também são determinadas pela distribuição desses filamentos.

ORGANIZAÇÃO GERAL DOS MICROTÚBULOS

HOMOPOLÍMERO

polímero em que todas as moléculas são iguais.

HETEROPOLÍMERO

polímero onde duas (ou mais) moléculas diferentes se alteram.

DÍMERO

duas moléculas que juntas formam uma unidade funcional; podem ser iguais (homodímero) ou diferentes (heterodímero).

Como os microfilamentos, os microtúbulos também se formam pela polimerização de uma proteína globular. Porém, enquanto os microfilamentos são **homopolímero** de actina, os microtúbulos são **heteropolímeros** de duas formas da proteína **tubulina**, a α e a β -tubulinas (Figura 23.1).

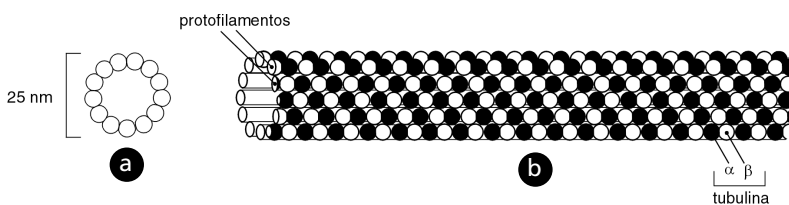


Figura 23.1: Esquema de um microtúbulo em corte transversal (a) e em vista lateral (b). Cada esfera em A corresponde a uma molécula (dímero α - β) de tubulina. Os protofilamentos são formados por cadeias lineares de tubulina.

Treze protofilamentos formam a circunferência dos microtúbulos. Cada protofilamento, por sua vez, é formado por **DÍMEROS** de α e β -tubulinas alternadamente dispostos (Figura 23.2). A molécula de β -tubulina possui um sítio ao qual se liga uma molécula de GTP (Figura 23.2). Os dímeros de α e as β -tubulinas formam **protofilamentos** que fecham o tubo em grupos de 13.

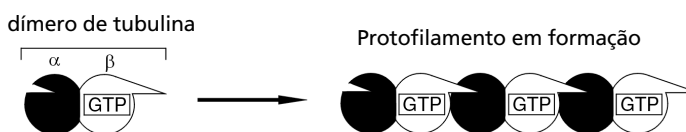


Figura 23.2: Os dímeros de tubulina se ligam sempre na mesma orientação: a subunidade de um dímero se liga à subunidade do dímero seguinte. É essencial que uma molécula de GTP se ligue à subunidade para que os dímeros se associem, formando o protofilamento.

Esse tal de GTP

A sigla GTP corresponde a guanosina trifosfato, uma molécula que, assim como o ATP (adenosina trifosfato), pode ser hidrolisada, gerando o guanosina difosfato, ou GDP, e liberando energia para algumas atividades celulares, como a dinâmica de polimerização dos microtúbulos. No entanto, a quantidade de energia liberada é bem menor que a da hidrólise do ATP. Por isso a hidrólise de GTP é usada muito mais freqüentemente como um sinal do que como fonte de energia. Geralmente, a molécula associada a GTP está ativa e a associada a GDP está inativa (também é assim com a proteína G, você lembra da aula 13?). Ah! Sim, ATP e GTP contêm nucleosídeos que também estão presentes na estrutura do DNA e RNA.

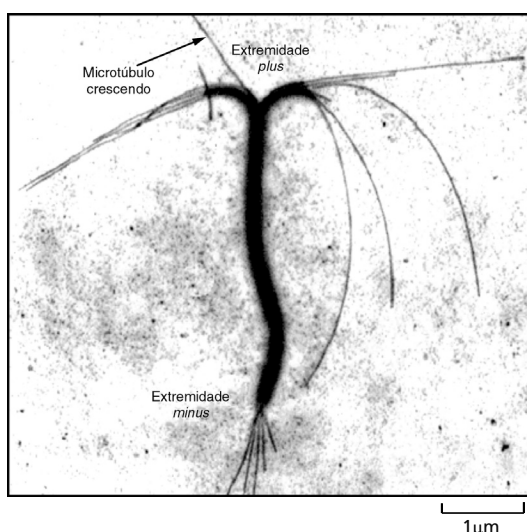


Figura 23.3: Microscopia eletrônica mostrando um feixe de microtúbulos onde está havendo crescimento preferencial na extremidade plus (Foto: Gary Borisi, fonte: *Molecular biology of the cell*, Alberts et al. 3rd ed. Garland Publishing Co., 1994.)

Observe o protofilamento na **Figura 23.3**. Você reparou que uma extremidade é diferente da outra? Numa delas, a α -tubulina fica exposta, e na outra, é a β -tubulina. Graças à maneira de o protofilamento se formar isso vai se manter até mesmo no microtúbulo. Assim, a disposição dos dímeros de α e β -tubulinas confere aos microtúbulos polaridade, isto é, as duas extremidades de um microtúbulo são diferentes. Uma consequência disso é que a incorporação de novos dímeros de tubulina ocorre preferencialmente em uma das extremidades do microtúbulo, enquanto a outra extremidade tende a liberar dímeros de tubulina com maior rapidez e facilidade (**Figura 23.3**).

Essas propriedades conferem aos microtúbulos um *sentido* preferencial de crescimento e fazem deles estruturas muito dinâmicas, capazes de crescer ou encolher rapidamente. A extremidade onde preferencialmente incorporam-se novos dímeros é chamada positiva ou *plus*, enquanto a extremidade oposta é negativa ou *minus* (**Figura 23.3**).

DINÂMICA DE POLIMERIZAÇÃO DOS MICROTÚBULOS

Na maioria das células, os microtúbulos são estruturas extremamente lábeis e dinâmicas, desaparecendo e reorganizando-se rapidamente. Essa atividade pode ser exemplificada pelo fuso mitótico, estrutura formada por microtúbulos e presente apenas durante a divisão celular, ao final da qual desaparece.

Novos microtúbulos podem se formar espontaneamente a 37°C num tubo de ensaio onde sejam adicionadas moléculas de α e β -tubulina acima de certa concentração, íons Mg^{++} e GTP (assim foram feitos os microtúbulos mostrados na **Figura 23.3**). Nessas condições, novos microtúbulos começam a se formar após um intervalo no qual nada parece estar acontecendo.

Essa fase corresponde ao período de **nucleação**, quando são formados os primeiros protofilamentos. A partir da formação desses núcleos, o alongamento dos novos microtúbulos passa a ser um processo rápido (Figura 23.4).

Podemos então considerar condições de polimerização de microtúbulos: a presença da concentração mínima necessária de dímeros de tubulina α - β (**concentração crítica**), a temperatura adequada (37°C), a presença de GTP e Mg^{++} . Correspondentemente, existem condições de despolimerização: a temperatura baixa (4°C), a falta de GTP, a presença de íons Ca^{++} (mais uma razão para a concentração citoplasmática de cálcio se manter baixa!) e a concentração de tubulina não polimerizada abaixo da crítica. Essas condições foram determinadas *in vitro*, mas depois se comprovou que também controlam a dinâmica de polimerização *in vivo*. Conhecer essas condições também ajuda a entender por que não é fácil manter microtúbulos polimerizados depois de romper uma célula, em experimentos de fracionamento celular. Poderíamos escrever as condições de polimerização e despolimerização de microtúbulos como uma equação química, que obedeça à Lei de Ação das Massas: nas condições adequadas, a polimerização prossegue até que a concentração de dímeros caia abaixo da crítica e aí a reação passa a tender para a esquerda, isto é, para a despolimerização. O contrário também é verdade!

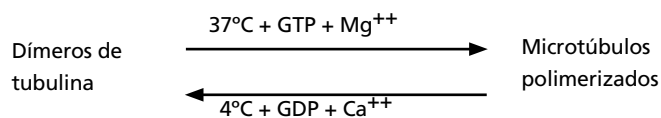
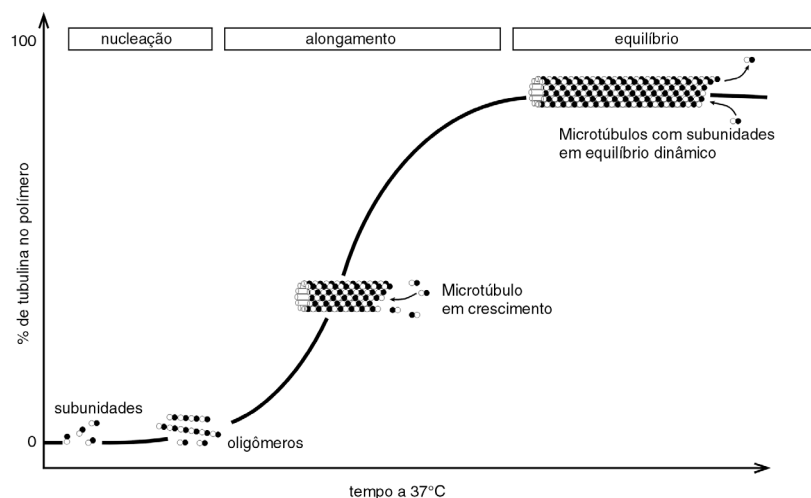


Figura 23.4: A partir de uma concentração mínima (concentração crítica), as subunidades de tubulina agregam-se em protofilamentos e logo em microtúbulos. A partir daí, o crescimento dos microtúbulos é bastante rápido, até atingir o ponto de equilíbrio dinâmico entre a quantidade de tubulina polimerizada e livre no citoplasma.



In vivo, as células possuem um **centro organizador de microtúbulos** ou **centrossoma**, de onde partem todos os seus microtúbulos. Em geral, os microtúbulos se orientam com a extremidade *minus* voltada para o centro organizador e a extremidade *plus* voltada para periferia celular (Figura 23.6).

O estudo dos processos de alongamento e encurtamento de microtúbulos é feito com a utilização de várias substâncias. Para saber um pouco sobre elas, consulte o box.

Drogas, poderosas aliadas no estudo dos microtúbulos

Sabe-se há muitos anos que diversas substâncias são capazes de interferir na formação do fuso mitótico (formado por microtúbulos), interrompendo a mitose. Essas drogas vêm sendo utilizadas tanto no estudo da participação dos microtúbulos nas atividades da células como no tratamento de algumas doenças.

Uma dessas drogas é a **colchicina**, extraída de um tipo de açafrão, que já era utilizada pelos egípcios no tratamento da gota.

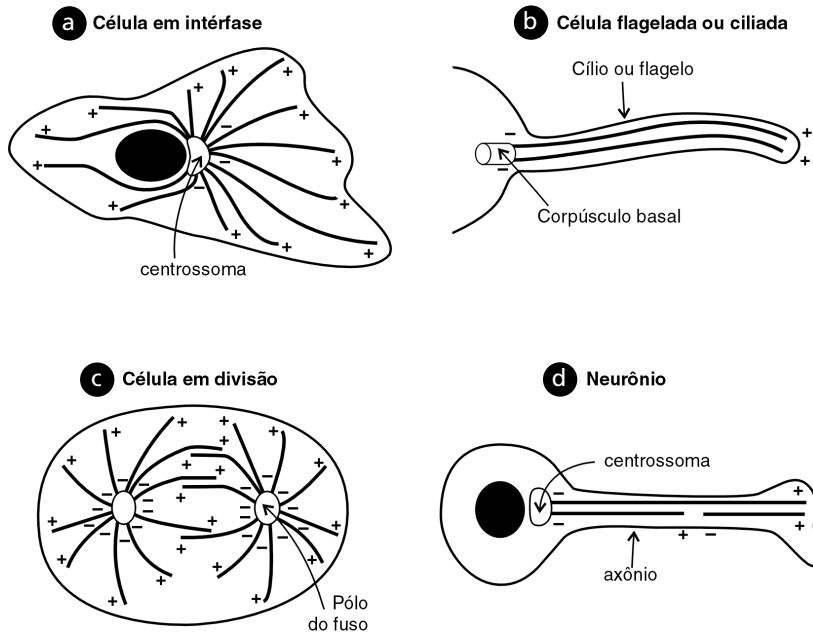
A colchicina, assim como seus derivados sintéticos, se liga à tubulina livre do citoplasma, impedindo que ela se agregue ao fuso mitótico, o que impede a célula de se dividir e termina por acarretar sua morte. A **vincristina** e a **vinblastina**, também obtidas a partir de uma planta (a *Vinca*, Figura 23.5), possuem efeito semelhante. Todas essas substâncias são empregadas no tratamento do câncer, visando a eliminar as células do tumor que se multiplicam numa velocidade muito superior à das células normais.



Figura 23.5: Além de servir para fabricar medicamentos e de dar uma força no estudo dos microtúbulos, a Vinca dá uma flor linda!

Outra substância empregada na quimioterapia do câncer é o **taxol**, extraída do teixo (gênero *Taxus*), uma árvore americana. Diferente das substâncias já descritas, o taxol age como um estabilizador dos microtúbulos, agregando a tubulina citoplasmática em microtúbulos e impedindo que eles se despolimerizem. Essa droga também termina por bloquear a divisão celular, ao impedir a dinâmica de polimerização e despolimerização dos microtúbulos.

Figura 23.6: Em geral, os microtúbulos orientam suas extremidades minus na direção do centro organizador (setas) e as extremidades plus para a periferia celular. Conforme o tipo de célula ou a fase do ciclo celular, o centro organizador recebe nomes como centrossoma (a), em células interfásicas, e corpúsculo basal, nas células flageladas (b). Já as células em divisão (c) possuem dois centros organizadores (os pólos do fuso mitótico), de onde partirão os microtúbulos do fuso. Nas células nervosas (d), os microtúbulos do axônio também partem do centro organizador.



O CENTRO ORGANIZADOR DOS MICROTÚBULOS

Todos sabemos que o fuso mitótico se organiza a partir dos centríolos e que cílios e flagelos partem de um corpúsculo basal (**Figura 23.6**). Não por acaso essas estruturas são formadas por microtúbulos (**Figura 23.7**). Entretanto, o que define o centro organizador de microtúbulos não é a presença do centríolo, e sim uma forma específica de tubulina, a γ -tubulina, que se distribui no material pericentriolar (em torno dos centríolos). A γ -tubulina forma um *complexo em anel de γ -tubulina* que se acredita ser o *molde* a partir do qual os protofilamentos e a estrutura tubular são formados. Além de funcionarem como centro de nucleação para os microtúbulos, os anéis de γ -tubulina formam uma espécie de *tampa*, estabilizando a extremidade *minus* e impedindo a perda de subunidades.

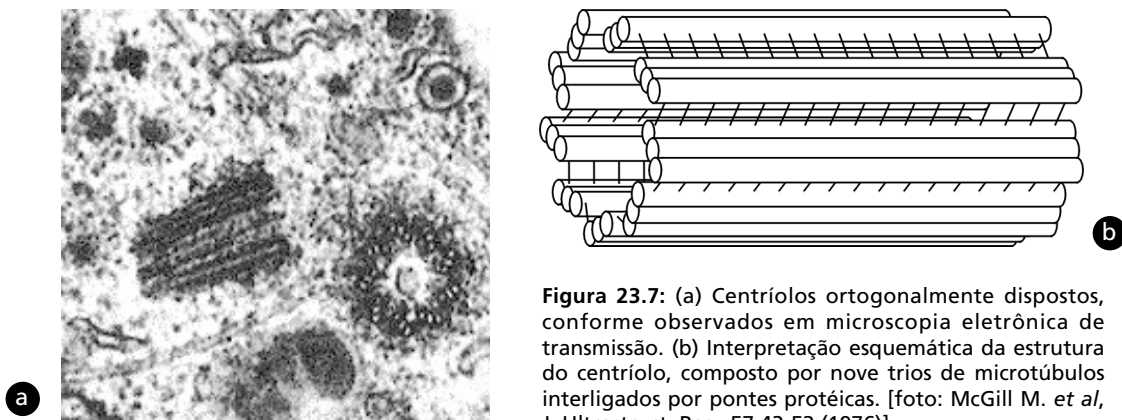


Figura 23.7: (a) Centríolos ortogonalmente dispostos, conforme observados em microscopia eletrônica de transmissão. (b) Interpretação esquemática da estrutura do centríolo, composto por nove trios de microtúbulos interligados por pontes protéicas. [foto: McGill M. et al, J. Ultrastruct. Res., 57:43-53 (1976)].

A POLIMERIZAÇÃO E A DESPOLIMERIZAÇÃO DE MICROTÚBULOS SÃO CONTÍNUAS

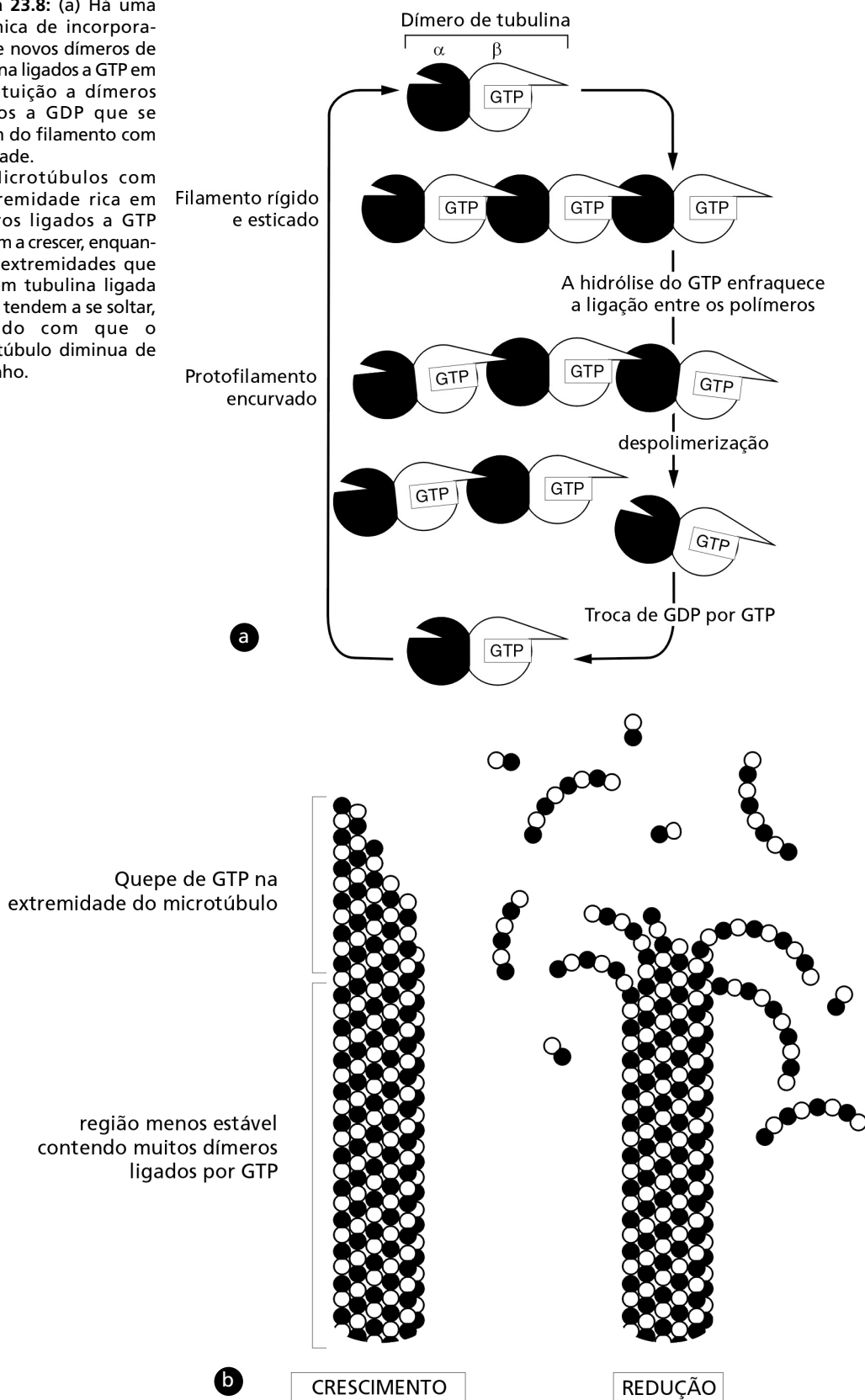
A utilização da videomicroscopia para a observação de células nas quais a tubulina foi marcada com moléculas fluorescentes (procure material em vídeo ou Cd-Rom disponível no pólo ou na Internet) mostrou claramente que os microtúbulos de uma célula típica estão constantemente se alongando e encurtando, num processo conhecido como **instabilidade dinâmica**. Já foi demonstrado que a *vida* média de uma molécula de tubulina é de 20 horas, enquanto um microtúbulo se mantém por cerca de dez minutos, em outras palavras, uma molécula de tubulina "participa" da construção de vários microtúbulos durante sua vida celular.

Essa instabilidade dinâmica resulta da hidrólise espontânea da molécula de GTP ligada à subunidade β da tubulina em GDP. Enquanto a associação ao GTP favorece a polimerização e mantém o protofilamento esticado, o GDP diminui a ligação entre os dímeros de tubulina, encurvando o filamento e favorecendo o desligamento do dímero do protofilamento (Figura 23.8).

O crescimento de um microtúbulo é favorecido quando há um acréscimo contínuo de subunidades ligadas a GTP. Naturalmente, para que isso ocorra, é necessário que haja um estoque citoplasmático de tubulinas ligadas a GTP, que continuamente substituirão as subunidades ligadas à GDP que forem se soltando da extremidade *plus*. Essas tubulinas ligadas à GTP formam um **quepe de GTP** na extremidade do filamento. Se esse quepe de GTP se desfizer (pela hidrólise do GTP a GDP não seguida de substituição por novas subunidades ligadas a GTP), ocorre o rápido encolhimento do microtúbulo, um fenômeno descrito como **despolimerização catastrófica**. Esse fenômeno pode ser comparado à implosão de um prédio: quando os alicerces são dinamitados, toda a estrutura colapsa (Figura 23.8). Já foram identificadas proteínas que contribuem para essa rápida despolimerização. Muito adequadamente essas proteínas foram denominadas **catastrofinas**.

Figura 23.8: (a) Há uma dinâmica de incorporação de novos dímeros de tubulina ligados a GTP em substituição a dímeros ligados a GDP que se soltam do filamento com facilidade.

(b) Microtúbulos com a extremidade rica em dímeros ligados a GTP tendem a crescer, enquanto as extremidades que expõem tubulina ligada a GDP tendem a se soltar, fazendo com que o microtúbulo diminua de tamanho.



OS MICROTÚBULOS ORGANIZAM A FORMA DA CÉLULA

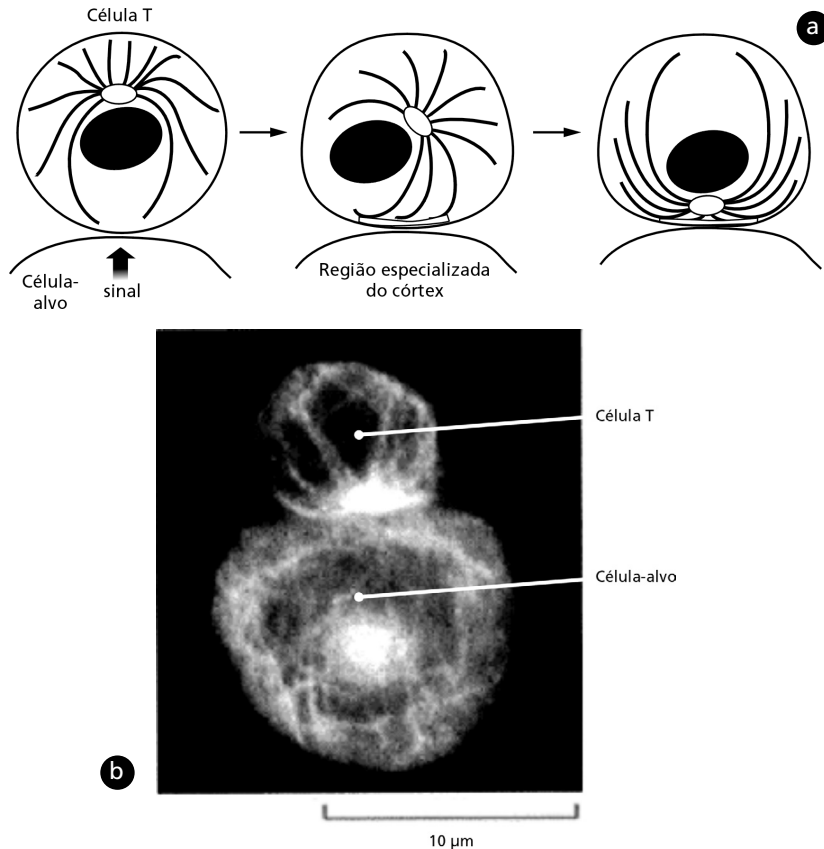
Como você pode notar na **Figura 23.6**, a forma geral das células depende da distribuição dos microtúbulos a partir do centróssomo, que, por sua vez, está sempre próximo ao núcleo, exceto durante a divisão celular.

Isso já nos dá uma "pista" sobre a importância do centro organizador de microtúbulos. Numa célula como a representada na **Figura 23.6A**, os microtúbulos partem do centróssomo, irradiando-se em todas as direções, mas preferencialmente no sentido para o qual essa célula parece está se deslocando. Já numa célula como o neurônio representada na **Figura 23.6D**, muitos microtúbulos se orientam paralelamente na direção do axônio, conferindo a forma básica dessa célula. Além disso, conforme já comentado nas aulas 17 e 21, o complexo de Golgi se posiciona sempre em torno do centróssoma e as cisternas do retículo endoplasmático se distribuem com a mesma orientação dos microtúbulos. Mais adiante, veremos também que vesículas citoplasmáticas e organelas como as mitocôndrias utilizam os microtúbulos como *trilhos* para se deslocar dentro da célula. Os filamentos intermediários, outro tipo de filamento do citoesqueleto, também se distribuem paralelamente aos microtúbulos.

Se, por um estímulo natural (ver box) ou por micromanipulação, o centróssoma de uma célula for deslocado de sua posição, todas as organelas celulares se reposicionarão em relação a ela, inclusive o núcleo. Por essas evidências, considera-se que o centro organizador de microtúbulos corresponde ao **centro** da célula.

As células T citotóxicas são um tipo de linfócito especializado em reconhecer e destruir células invasoras do organismo ou células infectadas por vírus. Nesse processo, a membrana da célula T faz contato com a membrana da invasora, desencadeando uma reorganização do seu citoesqueleto. O centróssoma e os microtúbulos da célula T se concentram na área de contato com a célula-alvo. O núcleo e o complexo de Golgi da célula T também se reposicionam, fazendo com que as proteínas que estão sendo produzidas para a distribuição da célula invasora sejam direcionadas com maior eficiência para a área de contato. Acompanhe a seqüência no esquema a seguir (**Figura 23.9**).

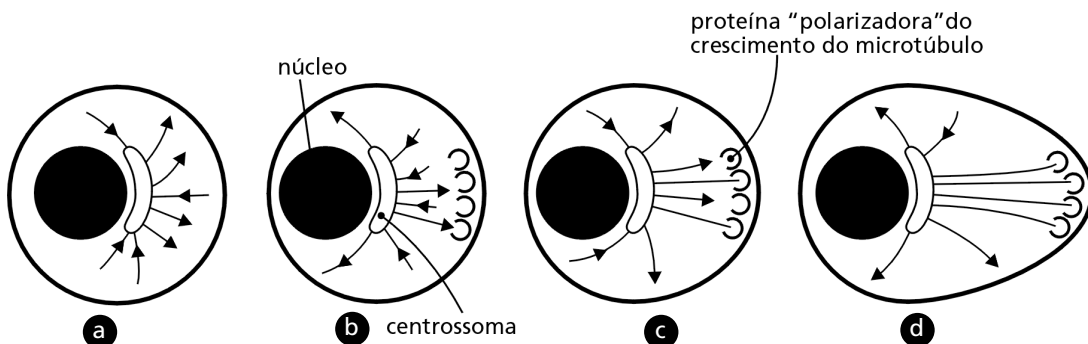
Figura 23.9: Em A, o esquema das modificações da distribuição dos microtúbulos na célula T citotóxica quando vai "atacar" a célula-alvo. Em B, imunofluorescência com anticorpos antitubulina, mostrando que o centrôssoma da célula T se desloca para a região de contato com a célula-alvo. Note que, nesta última, a distribuição dos microtúbulos é normal. Foto: Geiger, B. et al., *J. Cell Biol.* 95: 137-143 (1982) Rockefeller University press.



COMO OS MICROTÚBULOS SE ORIENTAM NA CÉLULA

Figura 23.10: A sequência esquematiza como uma proteína da membrana da célula pode "proteger" os microtúbulos a ela associados, estimulando e funcionando como "polarizadora" de seu crescimento, determinando assim o sentido em que uma célula se deformará. Na verdade, o processo é mais complexo do que a representação.

O centrôssomo corresponde ao centro da célula (você pensava que era o núcleo da célula, né?), mas como será que os microtúbulos crescem na direção *certa*? O *natural* seria que os microtúbulos se irradiassem em todas as direções, o que resultaria numa célula esférica, o que não é o caso para a maioria dos sistemas (ver box). A instabilidade dinâmica explica bem a ausência dos microtúbulos de uma região; em contrapartida, já foram identificadas outras proteínas, especialmente associadas à face citoplasmática da membrana plasmática, capazes de "estimular" a incorporação de novos dímeros de tubulina e, conseqüentemente, o crescimento do microtúbulos (Figura 23.10).



AS MAPS (PROTEÍNAS ASSOCIADAS AOS MICROTÚBULOS)

Além de proteínas que promovem o crescimento do filamento a partir de sua extremidade, outras proteínas interagem lateralmente com os microtúbulos, ajudando a manter a ligação entre os dímeros de tubulina (**Figura 23.11**). Essas proteínas pertencem a um grupo de proteínas cuja função é associar-se a microtúbulos com o objetivo de manter sua estrutura: as proteínas associadas a microtúbulos ou, simplesmente, **MAPs**.

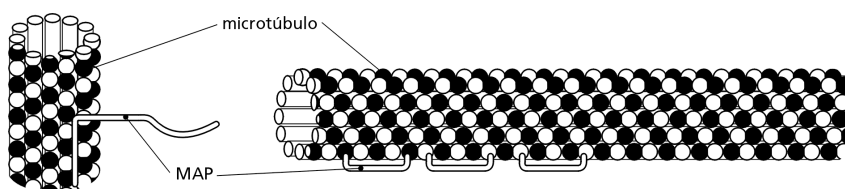


Figura 23.11: Tipos de MAP que formam ligações ao longo dos protofilamentos, ajudando a manter a estabilidade do microtúbulo.

MAPs são proteínas tão estreitamente associadas aos microtúbulos que fazem parte do próprio polímero. Essa noção vem de experimentos de polimerização de microtúbulos *in vitro*, a partir de um extrato citoplasmático em que, além dos dímeros de tubulina, havia muitas outras proteínas solúveis. A polimerização foi induzida, pelas condições adequadas e pelos microtúbulos produzidos separados do resto do extrato e purificados. Depois, a despolimerização foi induzida acrescentando-se cálcio e abaixando-se a temperatura; aí (surpresa!) descobriu-se, fazendo eletroforese, que além de tubulina, os microtúbulos, ao despolimerizar, liberava outras proteínas também: eram as MAPs. Duas das proteínas capazes de estabilizar os microtúbulos são a **MAP2** e a **Tau**. Caso você esteja se perguntando, "mas por que duas proteínas para mesma coisa?", já lhe adiantamos a resposta: a distância determinada entre dois microtúbulos pela MAP2 é bem maior que a determinada pela Tau. Assim, os feixes de microtúbulos estabilizados pela Tau são bem mais compactos do que os da MAP2.

PROTEÍNAS ASSOCIADAS À TUBULINA CITOPLASMÁTICA

Recentemente, foram identificadas mais duas proteínas importantes no comportamento dinâmico dos microtúbulos: a **statmina**, que liga dois dímeros citoplasmáticos de tubulina, ajudando a manter um *estoque* de tubulina não polimerizada, e a **katanina**, que “picota” microtúbulos já formados. A espada dos samurais se chama *katan*, em japonês, daí o nome dessa proteína.

Antes que você pense que a katanina e a catastrofina atuam da mesma forma, esclarecemos que enquanto a catastrofina atua na extremidade positiva do microtúbulo, onde está o quepe de GTP, a katanina fragmenta o microtúbulo em vários pontos.

Uma conclusão interessante é vermos como os microtúbulos, sempre formados pelas mesmas proteínas (α e β -tubulinas) podem se tornar mais estáveis ou mais dinâmicos conforme se associam a um grupo de proteínas (MAPs e Tau) ou outro (catastrofina, katanina).

Mas mesmo antes de conhecer as proteínas que ajudam a estabilizar ou despolimerizar os microtúbulos, eles já eram classificados em dois grandes grupos funcionais: a) os **microtúbulos lábeis**, que estão sob as condições descritas anteriormente de instabilidade dinâmica; nesse grupo, sem dúvida, o exemplo mais notável é o dos microtúbulos que formam o fuso mitótico; b) os **microtúbulos estáveis**, que não despolimerizam, mesmo estando em condições de despolimerização, como baixa temperatura e presença de cálcio; nesse grupo, o exemplo mais conhecido é o dos microtúbulos que formam cílios e flagelos.

PROTEÍNAS MOTORAS

As proteínas motoras que se associam a microtúbulos pertencem a duas famílias: as **cinesinas** (do grego *kynetos*, movimento) e as **dineínas**.

As cinesinas formam uma *superfamília* de proteínas motoras e possuem vários pontos em comum com a miosina do tipo II, abordada na aula sobre microfilamentos. A cinesina também é uma molécula formada por duas cadeias pesadas e duas cadeias leves. Enquanto a região globular da molécula possui as propriedades motoras, é pela região em α -hélice da molécula que os dímeros são formados (Figura 23.12).

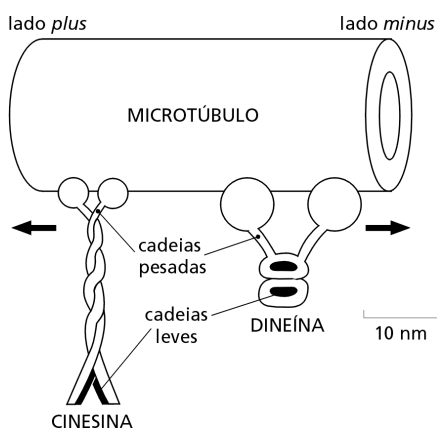


Figura 23.12: As proteínas motoras se ligam por uma extremidade ao microtúbulo e pela outra a uma organela ou vesícula que será transportada, como sobre um trilho. Note que cinesina e dineína se movem em sentidos opostos.

Existe uma enorme variedade de cinesinas. As primeiras foram observadas fazendo o transporte de vesículas contendo neurotransmissores no axônio gigante de lula (o axônio dessa espécie tem 1mm de espessura, o que é *enorme* se comparado a outras células nervosas). Num organismo simples como a levedura *Sacharomices cerevisiae* (o fermento de pão), foram descritos 6 tipos de cinesinas; na espécie humana, foram 40 (até o momento)!

As cinesinas se ligam aos microtúbulos pelo seu domínio motor. À outra extremidade se liga à partícula que será transportada. Às custas da hidrólise de ATP, as cabeças globulares da cinesina se ligam e se desligam do microtúbulo, fazendo com que a *carga* associada à outra extremidade seja transportada ao longo desse *trilho*. Quando ligada ao ATP, a molécula de cinesina fica no seu estado de *rigor*, isto é, permanece ligada ao microtúbulo. É a hidrólise de ATP que promove o desligamento da cinesina e seu deslizamento sobre o microtúbulo (**Figura 23.13**). Se pudéssemos ver uma molécula de cinesina, veríamos que as cabeças globulares da molécula se parecem com pezinhos que efetivamente se desligam alternadamente do filamento em vários ciclos. Assim, as moléculas (e as cargas a elas associadas) *caminham* por uma grande extensão e a uma velocidade razoável (0,2 a 2µm/seg). As cargas, como já comentamos, são organelas limitadas por membrana como mitocôndrias e elementos do complexo de Golgi, retículo ou outras. É claro que para transportar uma mitocôndria são necessárias muitas cinesinas atuando em conjunto. A mitocôndria ficaria com o aspecto de uma “centopéia molecular”. As vesículas sinápticas (ver box) que são formadas no corpo celular e transportadas para a extremidade do axônio onde serão excitadas também *viajam* ao longo dos microtúbulos, movidas a cinesina. Não é à toa, portanto, que essas proteínas são chamadas de *motores moleculares*.

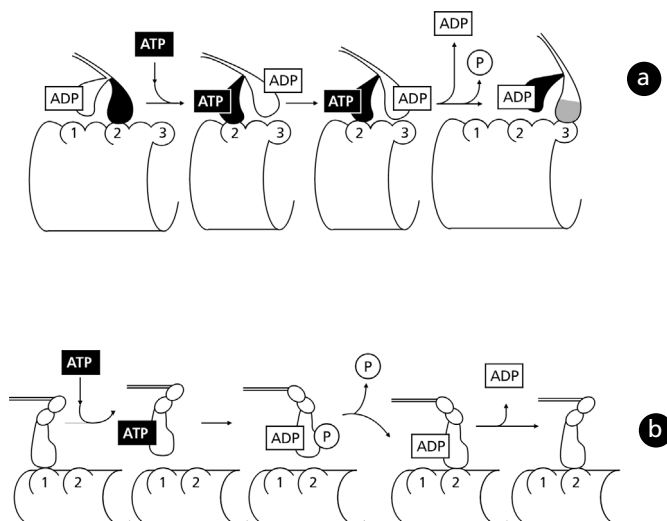
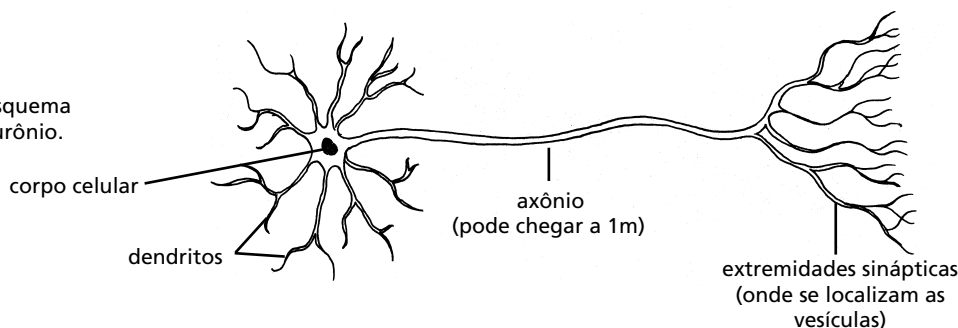


Figura 23.13: A cinesina (a) e a miosina (b) são proteínas capazes de hidrolisar ATP, o que provoca mudanças em sua conformação. A associação da cinesina a um microtúbulo e da miosina a um microfilamento promove movimento do filamento ou de alguma “carga” associada a essas proteínas motoras. Note que a cinesina ligada ao ATP se liga ao microtúbulo, enquanto a miosina depende de ATP justo para desligar-se do filamento.

Muito do que se sabe sobre o transporte intracelular de vesículas e organelas foi observado em neurônios gigantes de lula. Essa célula mostrou ser um ótimo modelo tanto pelo seu tamanho como pela sua forma e sua função. Apenas para maior clareza, incluímos aqui um modelo de célula nervosa (**Figura 23.14**) para que você não tenha dúvidas sobre estruturas como axônio e vesículas sinápticas, referidas no texto.

Figura 23.14: Esquema geral de um neurônio.



Uma característica importante das cinesinas é que elas caminham ao longo do microtúbulo sempre no sentido *plus*, isto é, em direção à periferia celular. O transporte centrípeto (devia ser *celulípeto*, para o centro da célula!) é feito por proteínas motoras da família das **dineínas**, que caminham ao longo do microtúbulo, sempre no sentido *minus*.

É através das dineínas que as cisternas do complexo de Golgi são mantidas junto ao núcleo, próximo ao centro organizador de microtúbulos.

Enquanto miosinas e cinesinas guardam algumas similaridades, as dineínas diferem de ambas em vários pontos:

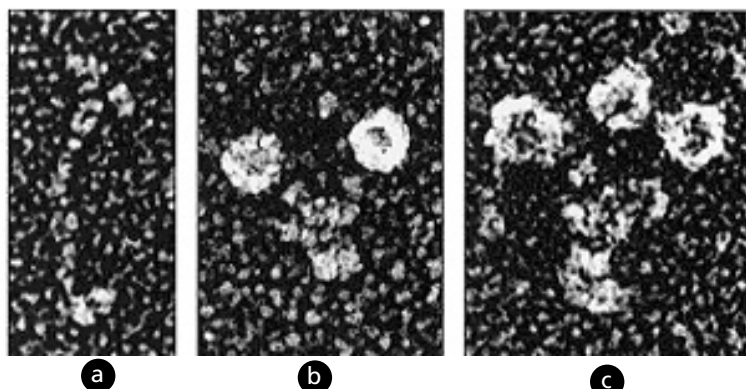
⇒ as cabeças globulares das dineínas são muito maiores que as das miosinas e cinesinas (**Figura 23.15**);

⇒ as dineínas trafegam no sentido *minus* do microtúbulo (**Figura 23.12**);

⇒ o transporte feito via dineínas é bem mais rápido ($14\mu\text{m}/\text{seg!}$) que o das cinesinas ($\sim 2\mu\text{m}/\text{seg}$);

⇒ além da dineína citoplasmática, há um grupo de dineínas ciliares e flagelares que pode ter três domínios globulares, ao invés dos dois normalmente encontrados (**Figura 23.15**).

Figura 23.15: Moléculas de (a) cinesina e (b e c) dineína observadas ao microscópio eletrônico de transmissão. Repare como os domínios globulares (as cabeças) das dineínas são bem maiores que os da cinesina. A dineína flagelar (c) possui 3 domínios globulares. (Fotos: John Heuser).



MOVIMENTO CILIAR E FLAGELAR

Cílios e flagelos são estruturas motoras encontradas em protozoários (os ciliados e os flagelados) e também em células de organismos pluricelulares, como os espermatozóides (flagelo) e o epitélio ciliado das vias respiratórias (cílios).

A estrutura interna de cílios e flagelos é idêntica. Mesmo assim, eles são prontamente diferenciados: os cílios costumam ser curtos e se dispõem em fileiras que executam um movimento ondulatório sincronizado semelhante ao de um remo (Figura 23.16A e B). Os flagelos são bem mais longos e em menor número (um no espermatozóide humano, oito na *Giardia lamblia* etc.). O movimento dos flagelos é ondulatório (Figura 23.16C).

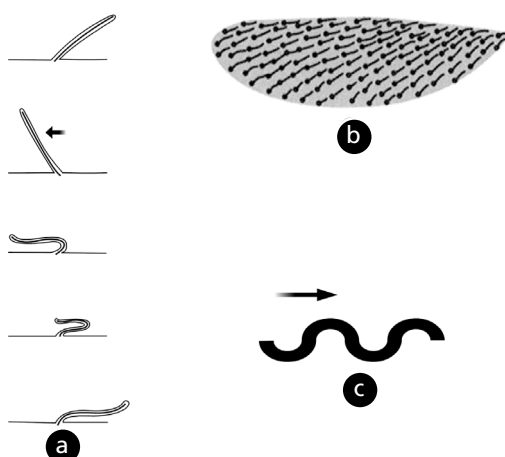


Figura 23.16: (a) O movimento do cílio se dá em duas etapas: uma puxada rápida num sentido (1 e 2) que efetivamente resulta em deslocamento e uma recuperação lenta no outro sentido (3 a 5) que prepara o cílio para um novo batimento. (b) Esquema de um ciliado (*Paramecium*). As fileiras de cílios se movem sincronicamente. (c) O movimento flagelar se dá como uma onda que se propaga.

A estrutura básica de cílios e flagelos é chamada **axonema** e está representada na Figura 23.17. Ao redor de um par central de microtúbulos, arranjam-se 9 duplas de microtúbulos. Cada dupla é formada pelos 13 protofilamentos do microtúbulo A e pelos 9 protofilamentos do B. A cada microtúbulo A, ligam-se duas moléculas de dineína (os *braços* de dineína). Além de pontes radiais que ligam os pares periféricos ao par central, os pares periféricos se conectam por uma proteína que forma pontes entre eles: a **nexina**. O movimento do cílio ou flagelo é produzido pela inclinação do axonema.

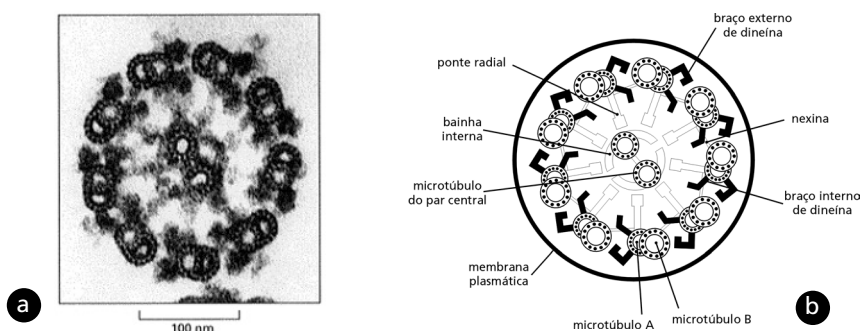


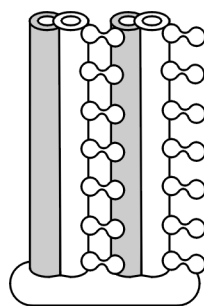
Figura 23.17: À esquerda, um axonema em corte transversal conforme visto ao microscópio eletrônico de transmissão. Note que as subunidades de tubulina podem ser contadas. No esquema à direita, os principais componentes da estrutura do axonema estão representados. (Foto: Lewis Tilney).

Essa inclinação é resultado da interação dos braços de dineína de um microtúbulo A com o microtúbulo B do par seguinte (Figura 23.18). Se as pontes de nexina e as pontes radiais forem desfeitas, o movimento das dineínas fará com que dois pares de microtúbulos adjacentes deslizem em sentidos opostos (Figura 23.18). Isso não acontece principalmente devido às nexinas.

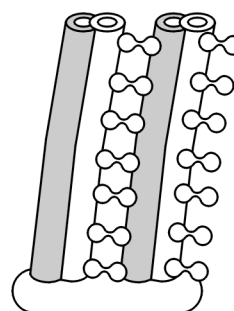
NOTA: Não confunda tubulina α e β com os microtúbulos A e B dos pares que formam o axonema de cílios e flagelos.

A cada momento, pares diferentes do axonema estão interagindo via dineína. Isso resulta em um movimento ondulatório para o flagelo.

Figura 23.18: A dineína faz com que os microtúbulos de um par se desloquem em relação a seu par vizinho. Como ambos estão presos por pontes de nexina, o resultado é o encurvamento do cílio ou flagelo. A propagação desta onda resulta no movimento de chicote do cílio e de ondulação do flagelo.



Pares de microtúbulos ligados por nexina



O deslizamento entre os pares leva ao encurvamento do cílio ou flagelo

RESUMO

Os microtúbulos são túbulos ocos formados por dímeros da proteína tubulina na sua forma α e β . São estruturas polarizadas, sendo a extremidade *plus* a que cresce mais rapidamente e a *minus* a de crescimento mais lento.

Os microtúbulos são nucleados a partir de uma região específica da célula, o centro organizador de microtúbulos. A proteína característica desse centro organizador é a γ -tubulina. Todas as extremidades *minus* ficam voltadas para o centro organizador e as extremidades *plus* para a periferia celular.

A incorporação de um dímero de tubulina a um microtúbulo em crescimento leva à hidrólise de uma molécula de GTP ligada à subunidade b desse dímero.

A disponibilidade de dímeros ligados à GTP leva à formação de uma *tampa* de GTP que protege e confere ao microtúbulo uma tendência a crescer.

Os microtúbulos são dotados de instabilidade dinâmica, crescendo e encolhendo a todo momento, redirecionando, assim, a forma e o deslocamento da célula.

Os microtúbulos podem estar associados a proteínas acessórias que aumentam sua estabilidade através da formação de *pontes* entre as subunidades de tubulina.

As cinesinas e dineínas são proteínas que se associam aos microtúbulos e são capazes de promover o deslizamento entre eles ou o transporte de organela e vesículas através do citoplasma, utilizando-os como trilhos.

Cílios e flagelos são estruturas motoras de protozoários e tipos celulares como espermatozóides e epitélios ciliados que conjugam em sua estrutura microtúbulos e proteínas acessórias estruturais e motoras.

Várias drogas interferem na dinâmica de polimerização e despolimerização dos microtúbulos e muitas delas são usadas na pesquisa e no tratamento de doenças como câncer e a gota.

A seguir, listamos as principais características das proteínas e drogas que se ligam a microtúbulos.

Droga	Função	Interação
Colchicina	Se liga a dímeros de tubulina	Impede a polimerização
Vinblastina	Se liga a dímeros de tubulina	Impede a polimerização
Vincristina	Se liga a dímeros de tubulina	Impede a polimerização
Taxol	Se liga aos microtúbulos, estabilizando-os	Impede a despolimerização
Proteína		
γ -tubulina	Nucleação de novos microtúbulos	Protege a extremidade minus, impedindo que perca dímeros
Tau	Estabilizar o microtúbulo	Forma pontes laterais entre microtúbulos, originando feixes
Map2	Estabilizar o microtúbulo	Forma pontes laterais entre microtúbulos, originando feixes
Catastrofina	Desestabilizar	Favorece a rápida despolimerização na extremidade <i>plus</i>
Nexina	Forma pontes entre os microtúbulos do axonema	Mantém a estrutura de nove pares periféricos no axonema de cílios e flagelos
Statmina	Liga-se a dímeros	Liga-se ao estoque citoplasmático de tubulina impedindo que toda ela se polimerize
Dineína	Proteína motora na direção <i>minus</i>	Liga-se a vesículas e organelas, transportando-as na direção do centróssoma. Também promove a inclinação dos microtúbulos dos axonemas
Cinesina	Proteína motora na direção <i>plus</i>	Liga-se a vesículas e organelas, transportando-as na direção da periferia da célula

EXERCÍCIOS DE AUTO-AVALIAÇÃO

1. O que é um protofilamento? Quantos protofilamentos formam um microtúbulo?
2. Qual a relação do GTP com o crescimento de um microtúbulo?
3. O que você entende por instabilidade dinâmica?
4. O que é o centro organizador de microtúbulos?
5. De que depende a nucleação de um novo microtúbulo?
6. Por que são úteis na quimioterapia do câncer tanto drogas que evitam a polimerização de microtúbulo quanto aquelas que evitam sua despolimerização?
7. A que funções ou estruturas celulares estão relacionados os microtúbulos?
8. Como atuam as proteínas motoras cinesina e dineína?
9. Como se dá o movimento de cílios e flagelos?

Microfilamentos

AULA 24

objetivos

Ao final desta aula, você deverá se capaz de:

- caracterizar os microfilamentos e sua proteína formadora, a actina;
- descrever a dinâmica de polimerização dos microfilamentos;
- listar e definir os principais tipos de movimentos celulares;
- caracterizar as principais estruturas celulares formadas por microfilamentos;
- relacionar as principais proteínas acessórias da actina a suas funções específicas;
- relacionar as principais drogas que interagem com a actina e seus efeitos.

INTRODUÇÃO

Como vimos na aula 21, todos os microfilamentos são formados pela proteína actina. Os microfilamentos estão associados a vários fenômenos celulares. O mais conhecido talvez seja a contração muscular, mas também dependem destes filamentos a adesão das células à matriz extracelular ou a substratos, a separação das células-filhas ao final da divisão celular, a preservação da estrutura das microvilosidades intestinais, os movimentos amebóides e muitos outros processos celulares (Figura 24.1).

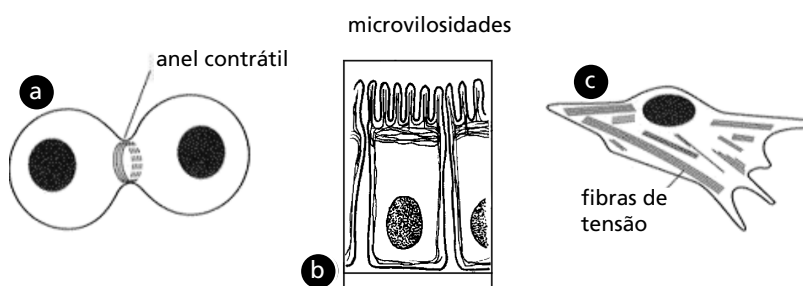


Figura 24.1: Filamentos de actina participam na separação de (a) células em divisão, (b) no preenchimento de microvilosidades intestinais e (c) na adesão de células.

LEVEDURA

Forma do ciclo de vida de alguns fungos. O fermento de pão e a *Candida albicans*, causadora do "sapinho", são leveduras.

ISOFORMA

Pequenas variações de uma molécula que podem resultar de modificações sutis na cadeia primária, como a substituição de um aminoácido, ou o acréscimo de um grupamento, como um acetil ou um metil.

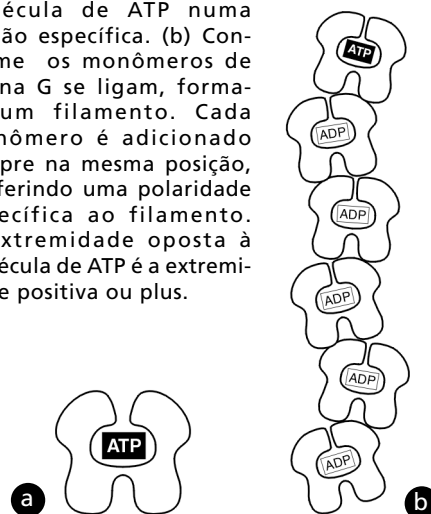
CARACTERÍSTICAS DA ACTINA

A actina está presente em todas as células eucariontes, sendo uma proteína muito conservada, isto é, sua sequência de aminoácidos é muito semelhante em organismos filogeneticamente bem distantes, como fungos e animais. De acordo com o tipo celular, a actina pode corresponder a até 20% do peso seco da célula, como é o caso das células musculares. Eucariontes mais simples, como as **LEVEDURAS**, possuem apenas um gene para actina. Já os mamíferos possuem vários genes para actina e ainda produzem várias **ISOFORMAS** dessa molécula. Pelo menos seis formas de actina já foram descritas. As mais importantes são a actina α , presente em células musculares, e a actina β , encontrada em células não musculares. Além dessas ainda existe a actina γ , também em células não musculares.

ESTRUTURA DOS MICROFILAMENTOS

Seguindo a “estratégia” fundamental para formação de filamentos, os microfilamentos são formados pela ligação de várias moléculas de actina, formando longos filamentos de 8nm de espessura (Figura 24.2), ou seja os microfilamentos também são polímeros. A actina no seu estado monomérico é chamada de actina G (de globular) e, quando incorporada ao microfilamento, de actina F (de filamentosa). Dois monômeros de actina só se encaixam em uma determinada posição. O resultado disso é que o filamento de actina se torna polarizado, isto é, as extremidades são diferentes.

Figura 24.2: (a) Embora a actina G seja uma proteína globular, ela aprisiona a molécula de ATP numa região específica. (b) Conforme os monômeros de actina G se ligam, forma-se um filamento. Cada monômero é adicionado sempre na mesma posição, conferindo uma polaridade específica ao filamento. A extremidade oposta à molécula de ATP é a extremidade positiva ou plus.



Filamento polarizado	⇒⇒⇒⇒⇒⇒⇒⇒⇒⇒
Filamento não polarizado	⇌⇌⇌⇌⇌⇌⇌⇌⇌⇌
Quando um filamento é polarizado, ele possui uma “direção”.	

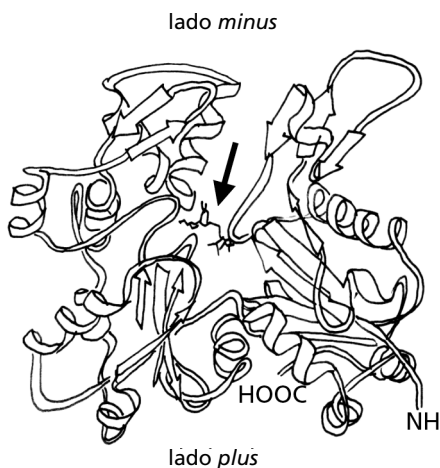


Figura 24.3: Estrutura da molécula de actina baseada em análise de difração por raios X (A). No centro da molécula (seta) está o sítio de ligação do ATP.

Novos monômeros podem ser adicionados (ou removidos) de qualquer uma das extremidades do filamento, desde que na posição correta, mas existe maior probabilidade de incorporação de novos monômeros a uma das extremidades, que é chamada de positiva, ou plus. Esta extremidade de crescimento está, em geral, voltada para a membrana plasmática.

Como você também pode observar na Figura 24.3, cada molécula de actina G possui em seu interior uma molécula de ATP. Ela é importante para a manutenção da estrutura da molécula. Sem o ATP em seu interior, a actina se desnatura (perde a forma característica da molécula) rapidamente. Quando a actina G se incorpora ao filamento, hidrolisa o ATP, formando ADP, que fica “aprisionado” no filamento (Figura 24.2).

A POLIMERIZAÇÃO DINÂMICA

Comparada, em termos quantitativos, à maioria das proteínas citoplasmáticas, a actina é uma das principais proteínas celulares. Parte dessa actina se encontra na forma não polimerizada (actina G) e a outra parte, na forma de microfilamentos (actina F).

É necessária uma concentração citoplasmática mínima de moléculas de actina G, chamada *concentração crítica*, para que os microfilamentos se formem. Um novo microfilamento tem início pela formação de um núcleo. Para que esse núcleo se forme são necessárias pelo menos duas outras proteínas relacionadas à actina, as ARPs (*actin related proteins*) do tipo 2 e do tipo 3. Essas moléculas são relativamente parecidas com a actina e se associam formando um complexo ARP 2-3 ao qual moléculas de actina G passam a se associar, formando um novo filamento (Figura 24.4).

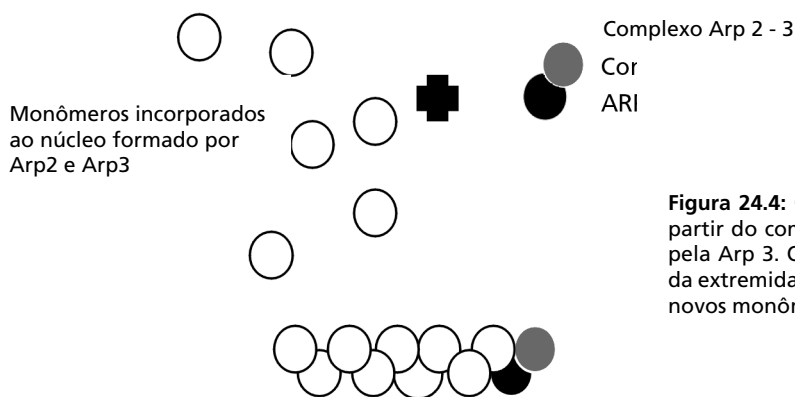


Figura 24.4: O microfilamento se forma a partir do complexo formado pela Arp 2 e pela Arp 3. O filamento cresce na direção da extremidade *plus*, pela incorporação de novos monômeros de actina.

PARADINHA ESPERTA

Nesta altura, você deve estar achando que microfilamentos e microtúbulos compartilham muitas características. De fato, ambos resultam da polimerização de proteínas e formam filamentos polarizados e dinâmicos. Embora a *estratégia* de formação de ambos seja semelhante, tubulina e actina são proteínas completamente distintas e os filamentos por elas formados possuem características de flexibilidade e resistência muito diferentes.

Normalmente a concentração citoplasmática de actina G é muitas vezes superior à concentração crítica (necessária para dar início a um novo microfilamento). Isto, em tese, poderia acarretar a total polimerização da actina da célula. Entretanto, isto não ocorre, porque a actina citoplasmática fica *protegida* por uma pequena proteína, a **timosina** que se mantém ligada aos monômeros, impedindo sua incorporação à extremidade positiva do filamento (Figura 24.5).

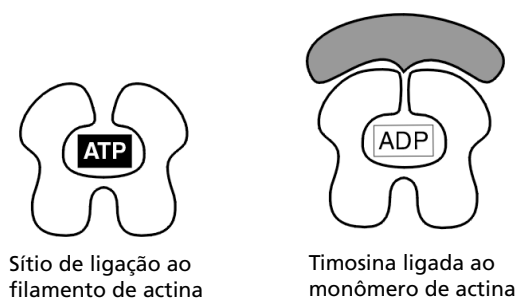


Figura 24.5: A timosina impede que o monômero a ela ligado se incorpore a um microfilamento.

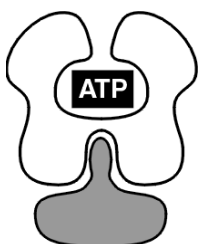


Figura 24.6: A profilina liga-se à actina do lado oposto ao ATP.

Já a profilina é outra proteína que se liga ao monômero de actina, competindo com a timosina, mas tem características diferentes dela: a profilina se liga à região da molécula oposta ao ATP (Figura 24.6) e é capaz de responder a estímulos de sinalização, como a picos de AMPc, por exemplo. A actina ligada à profilina fica estimulada a se associar à extremidade *plus* de um microfilamento. Assim, indiretamente, o crescimento da extremidade *plus* (e, conseqüentemente, do filamento) é estimulado. Assim que o complexo actina-profilina se incorpora ao filamento, a actina muda de conformação e libera a profilina.

Geralmente, a profilina se localiza junto à membrana plasmática e, em resposta a estímulos do meio ambiente, promove o crescimento de filamentos de actina em direção à membrana, empurrando-a. Note que um monômero de actina ou se liga à timosina, ou à profilina, nunca às duas moléculas ao mesmo tempo. O balanço entre as moléculas de actina G ligadas a uma ou outra proteína resulta na *instabilidade dinâmica* dos microfilamentos. Da mesma forma que os microtúbulos, os microfilamentos estão constantemente se alongando e encolhendo. Mais que isso, mesmo que o comprimento de um microfilamento pareça inalterado, constantemente algumas subunidades de actina se soltam na extremidade menos enquanto novas subunidades se incorporam à extremidade positiva.

A dinâmica de polimerização dos microfilamentos pode ser comparada à fila que enfrentamos para assistir a um bom filme ou partida de futebol: os primeiros a chegar (núcleo) vão fazendo com que a fila cresça. Quando a bilheteria é aberta, os primeiros começam a comprar e a sair da fila, mas essa permanecerá longa se mais gente for chegando; entretanto, aqueles que estavam atrás cada vez mais se aproximarão da bilheteria. Se todas as pessoas da fila conseguirem comprar seu ingresso, após algum tempo a fila terminará. Acompanhe o raciocínio no esquema abaixo.

Fim da fila  primeiro da fila

Se a fila anda, mas continua entrando gente na mesma:



Todos chegarão a ser o primeiro da fila, mas ela ficará do mesmo tamanho.

Se a fila anda e pára de entrar gente :



Você também chega a ser o primeiro da fila, mas a fila acaba!

MUITOS MOVIMENTOS CELULARES DEPENDEM DE ACTINA

Vimos na aula sobre microtúbulos que algumas células se deslocam pela ação de cílios e flagelos. Os microtúbulos também são responsáveis por *guiar* os cromossomas para as células filhas durante a divisão celular e pela distribuição de organelas celulares, como retículo, complexo de Golgi e mitocôndrias. Por outro lado, a contração muscular (que estudaremos em Biologia Celular II), o movimento amebóide e o estrangulamento final que separa as duas células filhas após a divisão, dependem da participação de microfilamentos.

Ao se deslocar numa determinada direção, as células emitem prolongamentos de seu citoplasma que podem ser lobulares (lobopódios), lamelares (lamelipódios) ou filamentosos (filopódios) (Figura 24.7). Todos resultam da incorporação de novos monômeros de actina na extremidade voltada para a membrana plasmática de microfilamentos já existentes (Figura 24.8).

Estarão disponíveis, na plataforma ou no pólo, vídeos mostrando a relação entre a incorporação de monômeros de actina ao filamento e os movimentos celulares; em caso de dúvida, consulte o tutor.

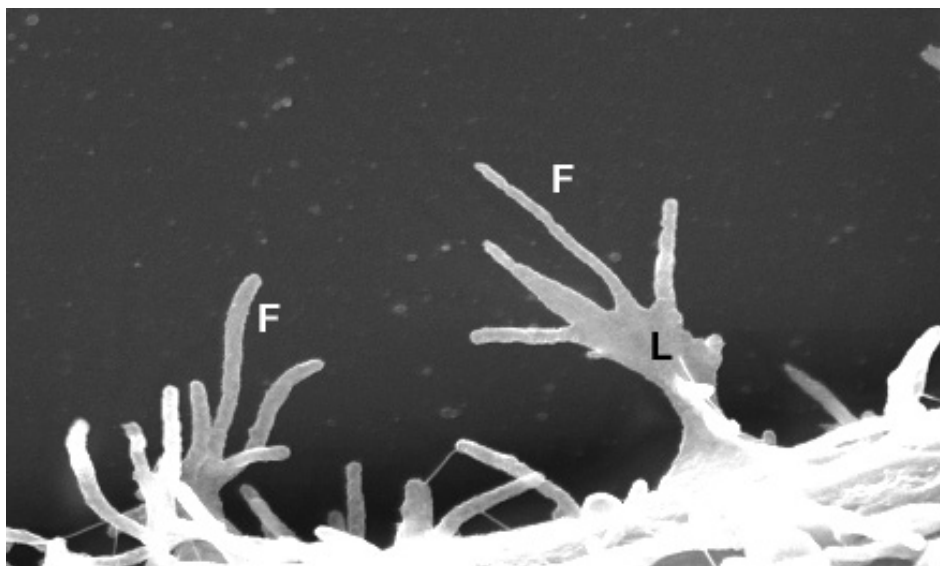


Figura 24.7: Lamelipódios (L) e filopódios (F) são formados sob a membrana plasmática pela polimerização de filamentos de actina. Foto de Márcia Attias.

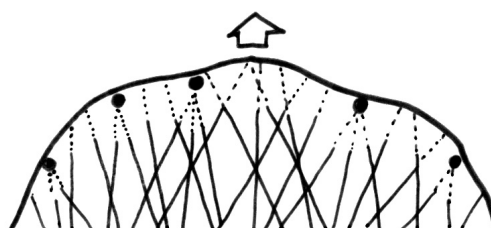
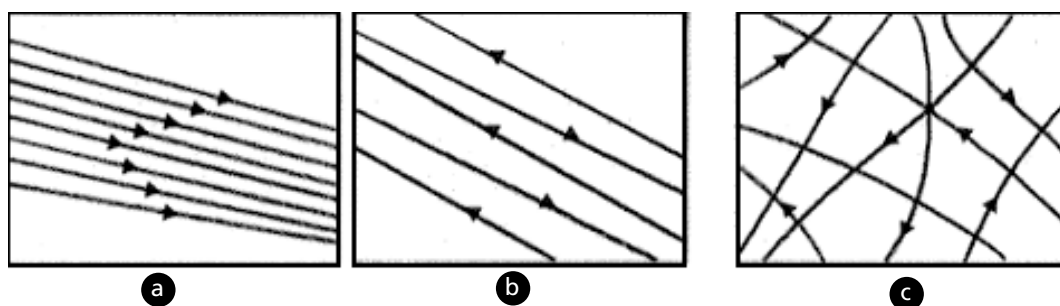


Figura 24.8: Novos monômeros de actina (pontilhado) se incorporam à extremidade plus dos microfilamentos preexistentes, empurrando a membrana plasmática e sustentando o deslocamento da célula naquela direção (seta).

LOBOPÓDIOS, LAMELIPÓDIOS OU FILOPÓDIOS? AS PROTEÍNAS ASSOCIADAS À ACTINA

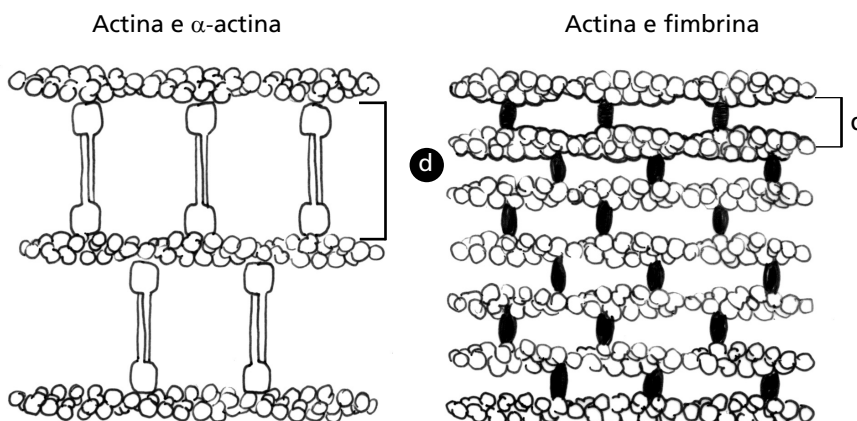
Figura 24.9: Os microfilamentos podem formar arranjos em feixes paralelos (a e b) ou em redes cruzadas (c). Nos feixes os filamentos podem ter todos a mesma orientação (a) ou não (b), como indicam as cabeças de seta.



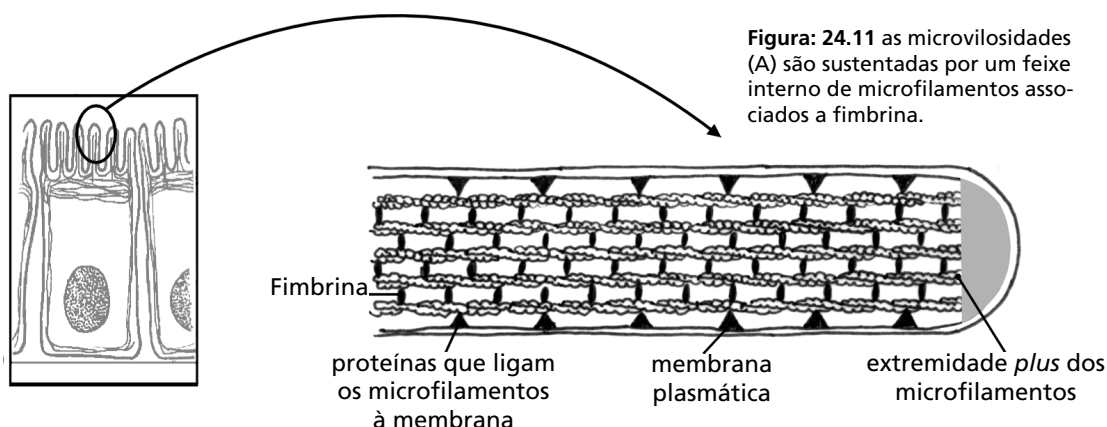
Cada um desses arranjos resulta da associação da actina com diferentes proteínas, das quais as mais comuns são: α -actinina (Figura 24.9B), fimbrina (Figura 24.9A) e filamina (Figura 24.9C).

A α -actinina e a fimbrina formam pontes entre dois filamentos de actina, dando origem a feixes paralelos (Figura 24.10). Essas proteínas funcionam como espaçadores, mantendo equidistantes os filamentos do feixe. Observando a Figura 24.10, vemos que a α -actinina mantém os microfilamentos mais distanciados que a fimbrina.

Figura:24.10: A α -actinina mantém uma distância (D) entre os microfilamentos maior que a fimbrina(d). Isso permite que outras proteínas se insiram entre os filamentos.



Não é difícil concluir que os feixes formados pela fimbrina são finos e compactos, como os encontrados nas microvilosidades (Figura 24.11).



Já a α -actinina permite um espaçamento maior entre os microfilamentos. Por isso mesmo, outras proteínas podem se inserir, dando origem a outras estruturas. A α -actinina é encontrada em muitas células, formando feixes capazes de suportar tensões, promovendo assim a adesão dessas células ao substrato (Figura 24.12). Por isso mesmo esses feixes são chamados fibras de tensão ou stress fibers, no original em inglês. Também é essa proteína que mantém o espaçamento regular entre os filamentos de actina nas células musculares esqueléticas, sobre as quais você saberá mais em Biologia Celular II. Na Figura 24.12, os locais marcados na célula correspondem aos arranjos de filamentos da Figura 24.9: os filopódios ao arranjo apertado da Figura 24.9B, o córtex celular ao arranjo entrecruzado da Figura 24.9C e as fibras de tensão ao arranjo paralelo da Figura 24.9A.

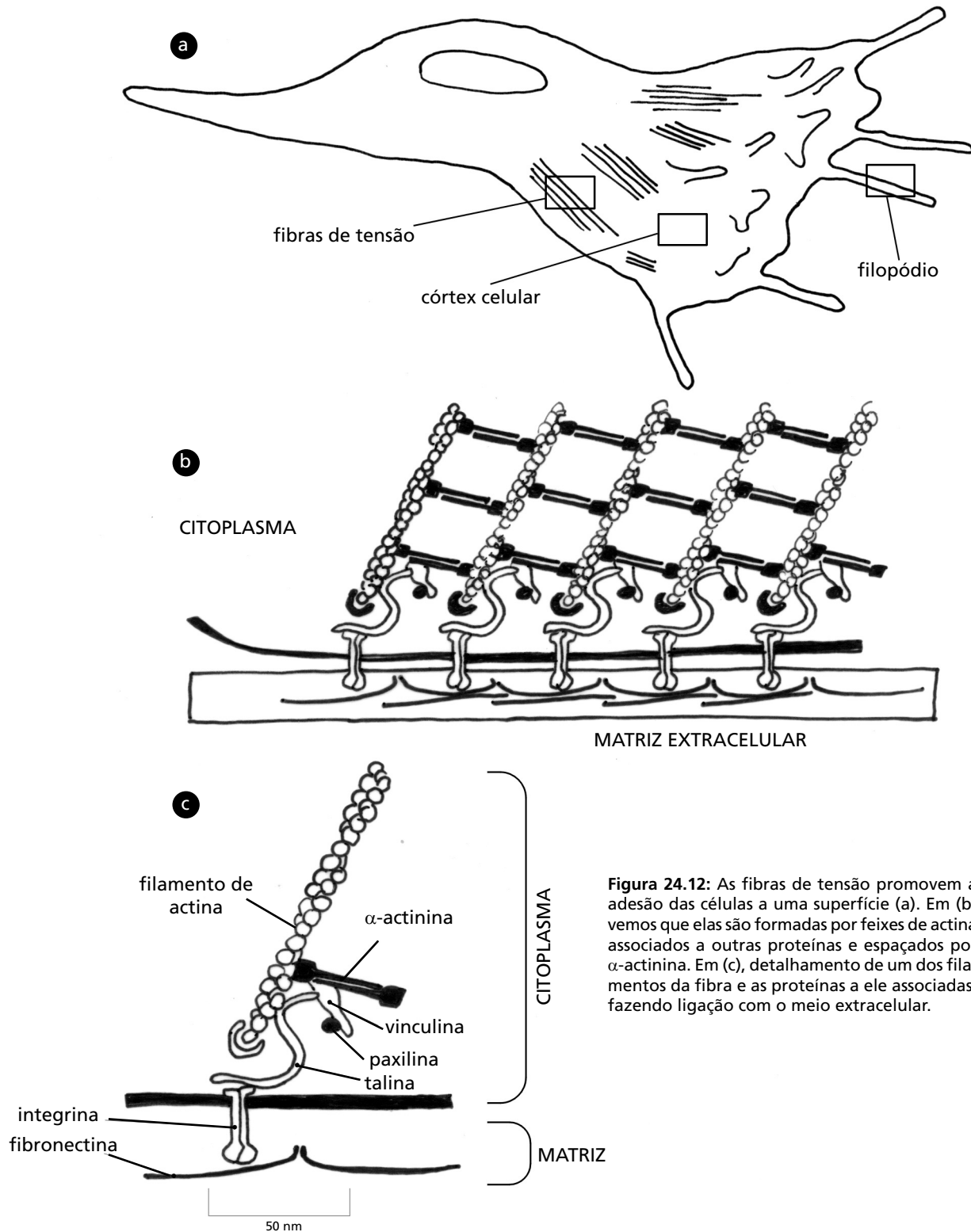


Figura 24.12: As fibras de tensão promovem a adesão das células a uma superfície (a). Em (b) vemos que elas são formadas por feixes de actina associados a outras proteínas e espaçados por α -actinina. Em (c), detalhamento de um dos filamentos da fibra e as proteínas a ele associadas, fazendo ligação com o meio extracelular.

A filamina também é uma proteína que interliga filamentos de actina, mas, ao invés de formar pontes entre filamentos dispostos em paralelo, os filamentos ligados por essa proteína formam uma rede (Figura 24.13).

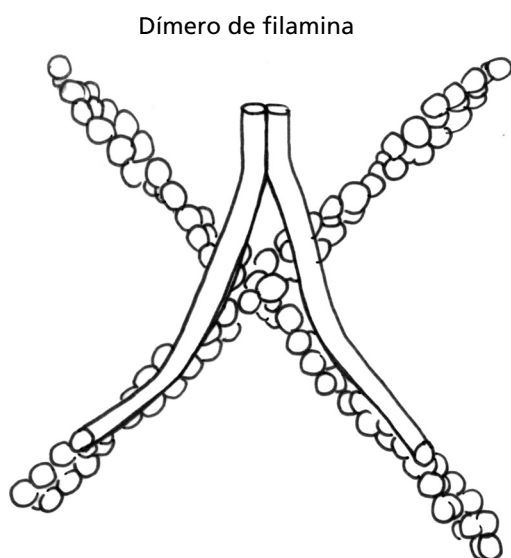


Figura 24.13: A filamina forma dímeros cuja distância entre as extremidades que se ligam ao filamento de actina permite a formação de redes de filamentos que se entrecruzam.

Na verdade, o que determina se a ligação à actina de cada uma dessas proteínas dará origem a feixes paralelos, redes ou mesmo se conectará o microfilamento à membrana plasmática é consequência de sua forma e tamanho (Figura 24.14).

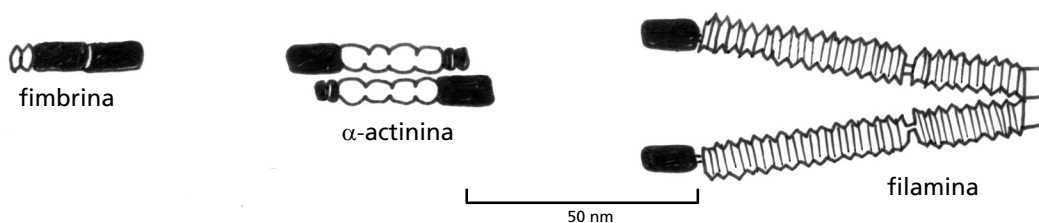


Figura 24.14: Enquanto a fimbrina possui apenas um sítio de ligação para actina, a α -actinina, por formar um dímero, pode ligar simultaneamente dois filamentos, assim como a filamina, onde o espaçamento e flexibilidade do dímero permitem a ligação de filamentos entrecruzados.

Uma célula aderida precisa soltar do substrato para poder se deslocar, mas se ela soltar todos os pontos de contato ao mesmo tempo vai ficar boiando! Assim, ela precisa soltar apenas alguns contatos com o substrato na região próxima à direção de migração. A célula faz isso despolimerizando nesses locais filamentos de actina associados à α -actinina (como os da **Figura 24.12B**) e polimerizando novos microfilamentos mas agora associados à fimbrina para formar filopódios que vão explorar o caminho. Caso a célula se decida a realmente ir nessa direção, vai precisar estabelecer novos contatos com o substrato e eles têm de ser sustentados por fibras de tensão para agüentar a tração de puxar o resto da célula para a frente (**Figura 24.15**).

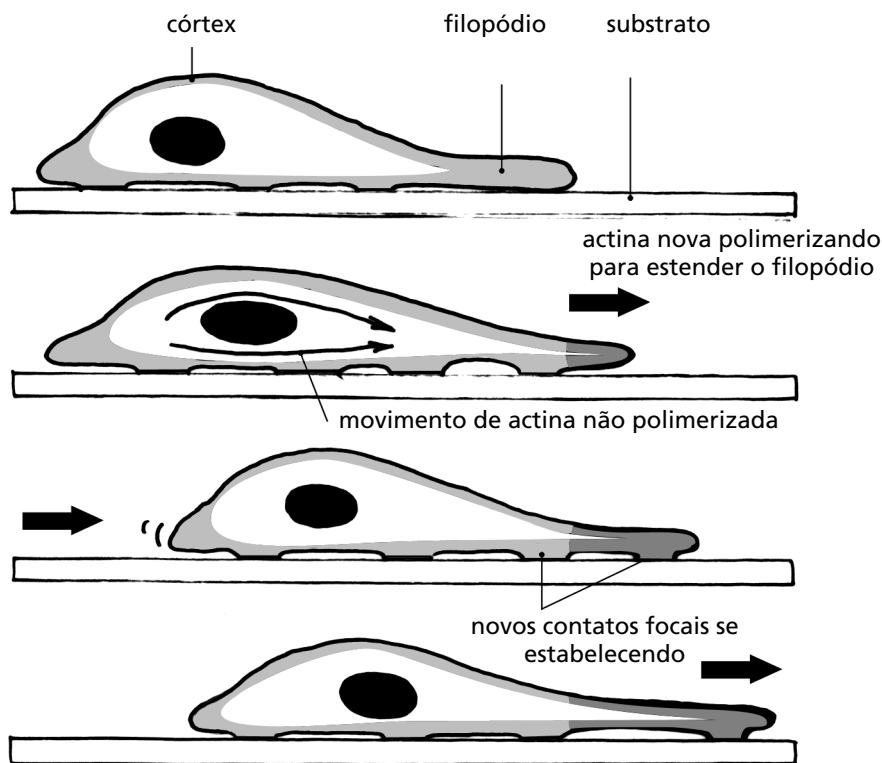


Figura 24.15: Movimento de uma célula aderida ao substrato.

Do caldeirão da bruxa

Algumas moléculas se ligam de forma específica à actina e impedem a dinâmica normal de polimerização-despolimerização dos microfilamentos, sendo, portanto, tóxicas para as células.

A faloidina é uma dessas substâncias. Extraída do cogumelo *Amanita phalloides*, a faloidina forma ligações laterais com os filamentos de actina, estabilizando-os. Envenenamentos com esse cogumelo (que pode ser confundido com espécies comestíveis) são tratados dando-se carne crua ao paciente. A actina contida na carne se liga a esta toxina e impede sua absorção. A faloidina é muito útil no estudo dos microfilamentos em laboratório, tanto pelo seu poder de estabilizar os microfilamentos – e com isso ser capaz de estabelecer se os mesmos participam de certos processos celulares – quanto pela possibilidade de visualizar os microfilamentos, tornando-os fluorescentes pela ligação à falacidina, um derivado fluorescente da faloidina.

A citocalasina também é uma toxina derivada de um fungo, capaz de ligar-se especificamente à actina. Difere da faloidina por ligar-se especificamente aos monômeros da actina, impedindo assim sua adição aos microfilamentos. Devido à dinâmica de polimerização-despolimerização, os microfilamentos acabam sendo todos despolimerizados, levando a célula a arredondar-se e desprender-se do substrato.

Embora atuem de maneiras diferentes, tanto a citocalasina quanto a faloidina impedem a participação dos microfilamentos em fenômenos celulares como o movimento amebóide e a fagocitose de partículas. Seriam os *Amanitas* os cogumelos venenosos das bruxas más?

OUTRAS ESTRUTURAS LIGADAS À ACTINA

As hemácias humanas (Figura 24.16) são células que durante o processo de diferenciação perdem o núcleo e todas as organelas e membranas internas. Seu formato característico de disco bicôncavo é dado pelo citoesqueleto associado à face interna de sua membrana plasmática. Nessas células, os filamentos de actina são curtos e a membrana se sustenta numa rede formada pela proteína espectrina (Figura 24.16). Esta arquitetura permite a distribuição homogênea das proteínas da membrana da hemácia e garante sua flexibilidade, fazendo com que ela possa se deformar para atingir os capilares mais finos.

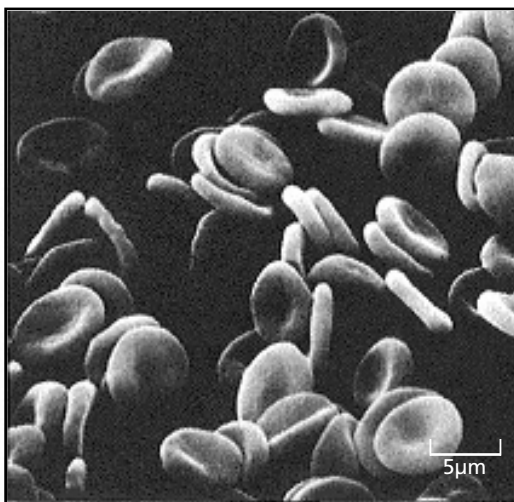
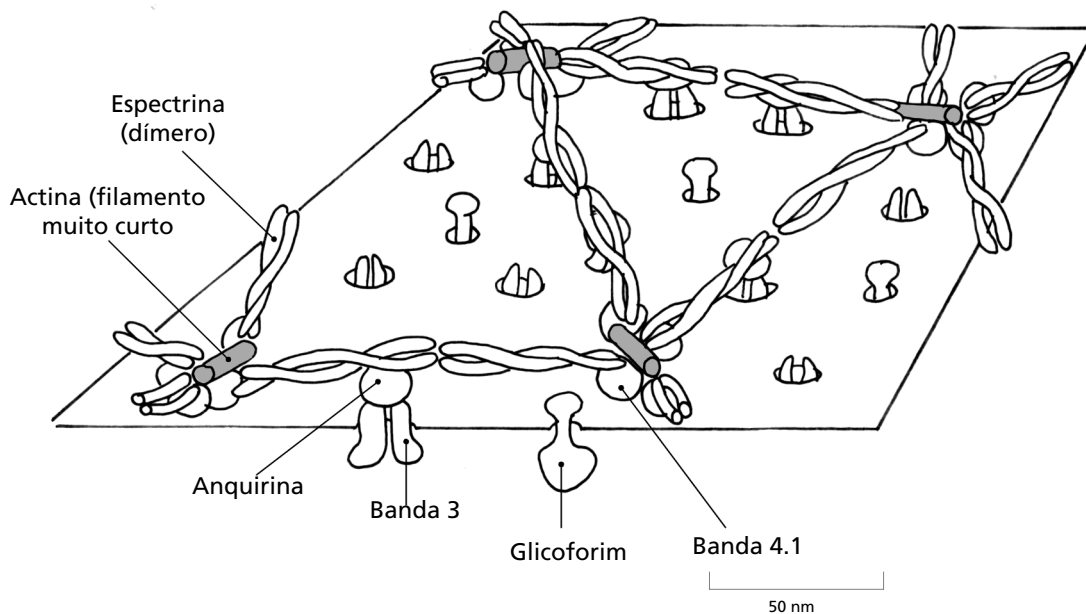


Figura 24.16: As hemácias (A) mantêm seu formato bicôncavo graças a uma rede interna de espectrina (B), que se liga a filamentos curtos de actina. Estes filamentos, por sua vez, associam-se a proteínas transmembrana da hemácia, garantindo sua distribuição homogênea em toda a membrana. O esquema B representa a face citoplasmática da membrana da hemácia.

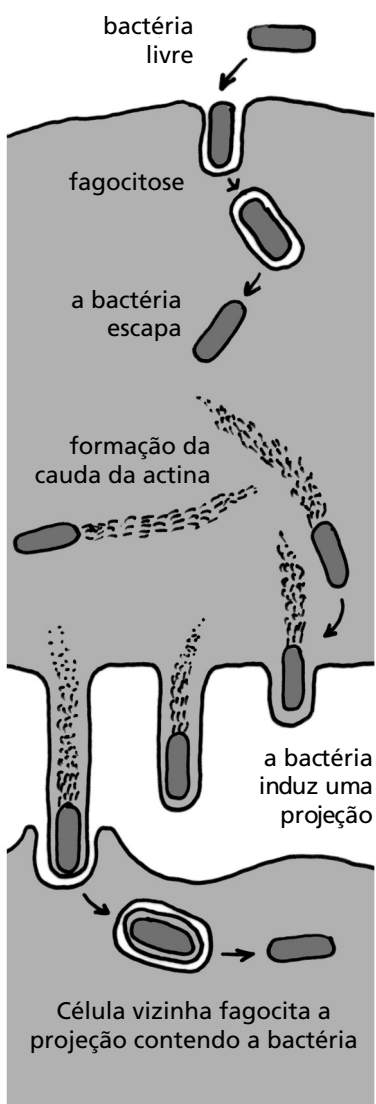


Curiosidade fantasmagórica

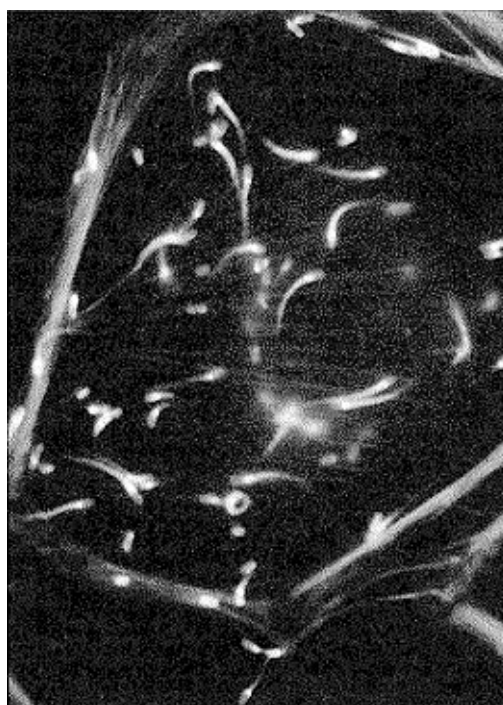
A hemácia foi o modelo de estudo da membrana plasmática que ajudou a produzir a maioria dos conhecimentos básicos sobre essa estrutura. Geralmente, antes de iniciar os experimentos, as hemácias eram delicadamente rompidas apenas para vazarem o conteúdo de hemoglobina que atrapalhava bastante as análises. Depois do esvaziamento, a membrana da hemácia tornava-se a fechar e a hemácia esvaziada passava a ser chamada *ghost* (fantasma). Quando o citoesqueleto sob a membrana foi descoberto, suas proteínas foram analisadas por eletroforese e numeradas; algumas são conhecidas pelo número até hoje, apesar de importantes, como a banda 3, principal transportadora de cloreto, ou a banda 4.1, que ancora o citoesqueleto à membrana; mas a mais abundante foi batizada de “a proteína do fantasma”: espectrina.

Traída pela própria actina: a estratégia da *Listeria monocytogenes*

A bactéria patogênica *Listeria monocytogenes*, responsável por um tipo grave de intoxicação alimentar, desenvolveu uma estratégia particular para movimentar-se dentro das células que invade. Inicialmente, a bactéria é englobada pela célula hospedeira em um vacúolo, do qual rapidamente escapa para o citoplasma. Embora não possua estruturas locomotoras, a bactéria é capaz de formar em uma de suas extremidades uma cauda de filamentos de actina que, ao crescer, funciona como a cauda de um foguete, empurrando-a pelo citoplasma. Eventualmente, a cauda de actina acaba empurrando a *Listeria* na direção da membrana plasmática, levando-a a invadir as células vizinhas, onde se multiplicará e repetirá a estratégia de escape. Acompanhe as principais etapas desse processo na **Figura 24.17**. Um vídeo documentando este curioso fenômeno também estará à sua disposição na plataforma.



a



b

Figura 24.17: Esquema (a) e fluorescência (b) de uma célula parasitada pela bactéria *Listeria monocytogenes*. (Foto: Tim Mitchinson e Julie Theriot)

OS MICROFILAMENTOS PODEM SE FRAGMENTAR RAPIDAMENTE

Assim como algumas substâncias são capazes de estimular o rápido crescimento dos microfilamentos, determinadas circunstâncias provocam sua súbita fragmentação. É o que acontece quando a proteína citoplasmática gelsolina se liga a Ca^{++} . Nessas condições há uma imediata fragmentação dos microfilamentos, provocando o desaparecimento de estruturas mantidas por eles. Em algumas células, observa-se que, quando a maior parte da actina se encontra na forma filamentosa, o citoplasma adquire uma *consistência gelatinosa*, sendo esse estado chamado gel. Quando a actina se encontra fragmentada, diz-se que o citoplasma está no estado sol. A constante transição entre os estados sol e gel de certas regiões periféricas do citoplasma é fundamental para o deslocamento da célula num substrato. Quando a célula é tratada com *citocalasina* (vide box), o citossol tenderá a ficar no estado sol. Já a *faloidina* levará ao estado gel.

OS MICROFILAMENTOS E OS MOVIMENTOS CELULARES: PROTEÍNAS MOTORAS

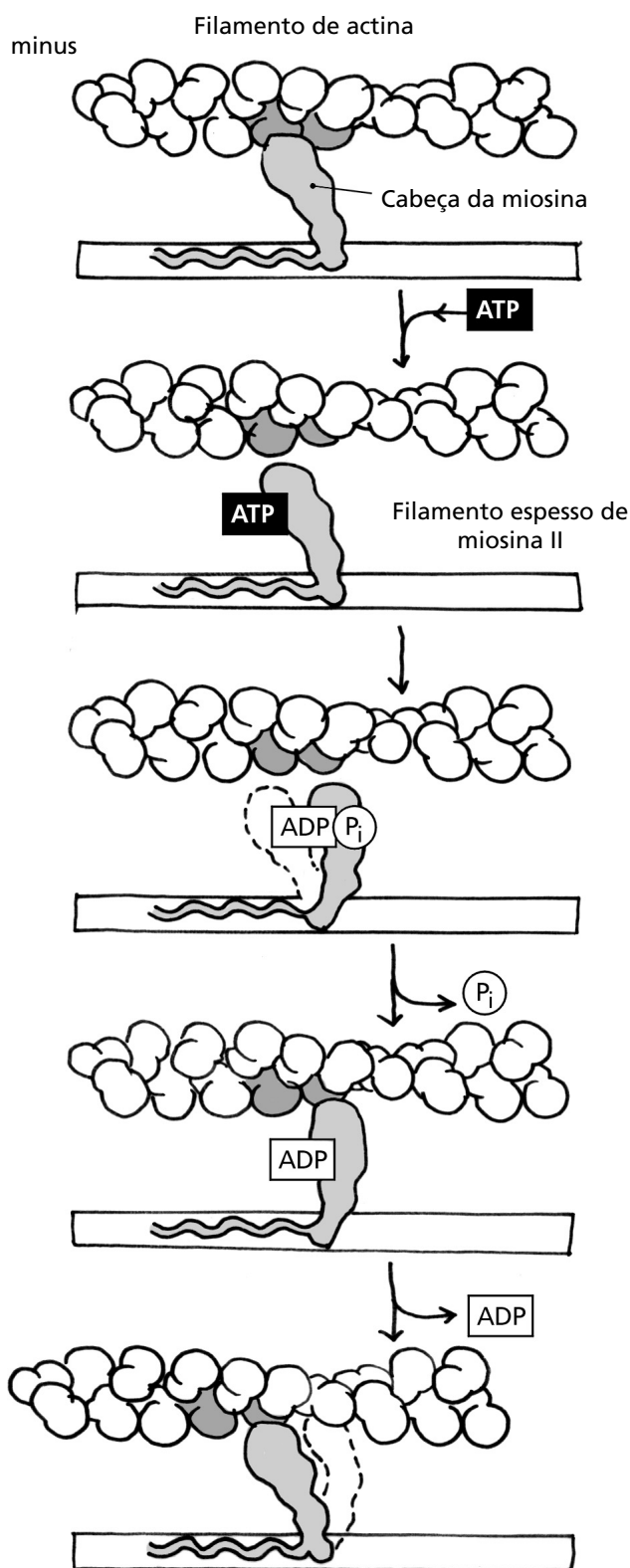
A simples polimerização-despolimerização de microfilamentos não é suficiente para justificar a participação dos mesmos em fenômenos como a contração muscular ou o estrangulamento das células-filhas após a mitose. Estes eventos requerem, além de proteínas estruturais que mantenham as conexões entre microfilamentos e destes com a membrana plasmática, as chamadas proteínas motoras. As proteínas motoras associadas aos microfilamentos pertencem a uma mesma família: as miosinas.

Todas as miosinas são capazes de hidrolisar ATP a ADP e fosfato inorgânico (Pi) quando se associam a microfilamentos. Durante o processo, a molécula de miosina promove o deslocamento do microfilamento. Este movimento pode ser registrado quando se reveste uma lâmina com moléculas de miosina e microfilamentos marcados com uma substância fluorescente e ATP são adicionados. Ao microscópio de fluorescência os microfilamentos se deslocam de um lado ao outro da lâmina. Um clipe deste experimento se encontra disponível no pólo.

A superfamília das miosinas engloba várias subfamílias. Dessas, as mais importantes são as miosinas I, II e V. Evolutivamente, a miosina I é mais primitiva e acredita-se que tenha dado origem à miosina II e todas as outras. A miosina I também é chamada miosina não muscular e é o tipo mais abundante na maioria das células. Já a miosina II é característica das células musculares. A miosina V foi descoberta mais recentemente e é responsável pelo transporte de vesículas ao longo de microfilamentos. Tanto a actina quanto a miosina foram primeiro descritas em células musculares.

Todas as miosinas possuem uma região da molécula conservada, é o chamado domínio motor. Trata-se de uma região globular onde a hidrólise do ATP a ADP e P_i é catalisada. A hidrólise do ATP provoca uma modificação na posição relativa entre a miosina e o microfilamento que lhe esteja próximo que leva à liberação do P_i . Deste ponto em diante, a ligação entre actina e miosina se fortalece, ao mesmo tempo que uma região flexível logo abaixo da cabeça globular da miosina se deforma, fazendo com que a miosina acabe por puxar o filamento de actina ao qual inicialmente havia se ligado. A dinâmica do processo está esquematizada na **Figura 24.18**.

Figura 24.18



Uma molécula de ATP se liga ao domínio globular da molécula de miosina.

A hidrólise do ATP produz ADP e P_i e muda o ângulo entre a cabeça e a cauda da miosina, fazendo com que o domínio globular da miosina se aproxime do filamento de actina.

A liberação do P_i favorece a ligação entre actina e miosina.

A liberação do ADP provoca uma flexão da molécula de miosina que puxa o filamento de actina ligado a ela.

A associação entre actina e miosina só se desfaz com a ligação a uma nova molécula de ATP, permitindo o reinício do ciclo.

Além do domínio motor, todas as miosinas possuem uma cauda que pode manter a molécula ligada à membrana ou a outro filamento (Figuras 24.19 e 24.20). No caso da miosina I, a cauda é bastante curta; já a miosina II é um dímero em que as duas caudas se entrelaçam de modo que os domínios globulares se posicionem em uma das extremidades da molécula (Figura 24.19). Na miosina V, a porção flexível da molécula é mais longa, permitindo que seu passo seja maior do que o da miosina II.

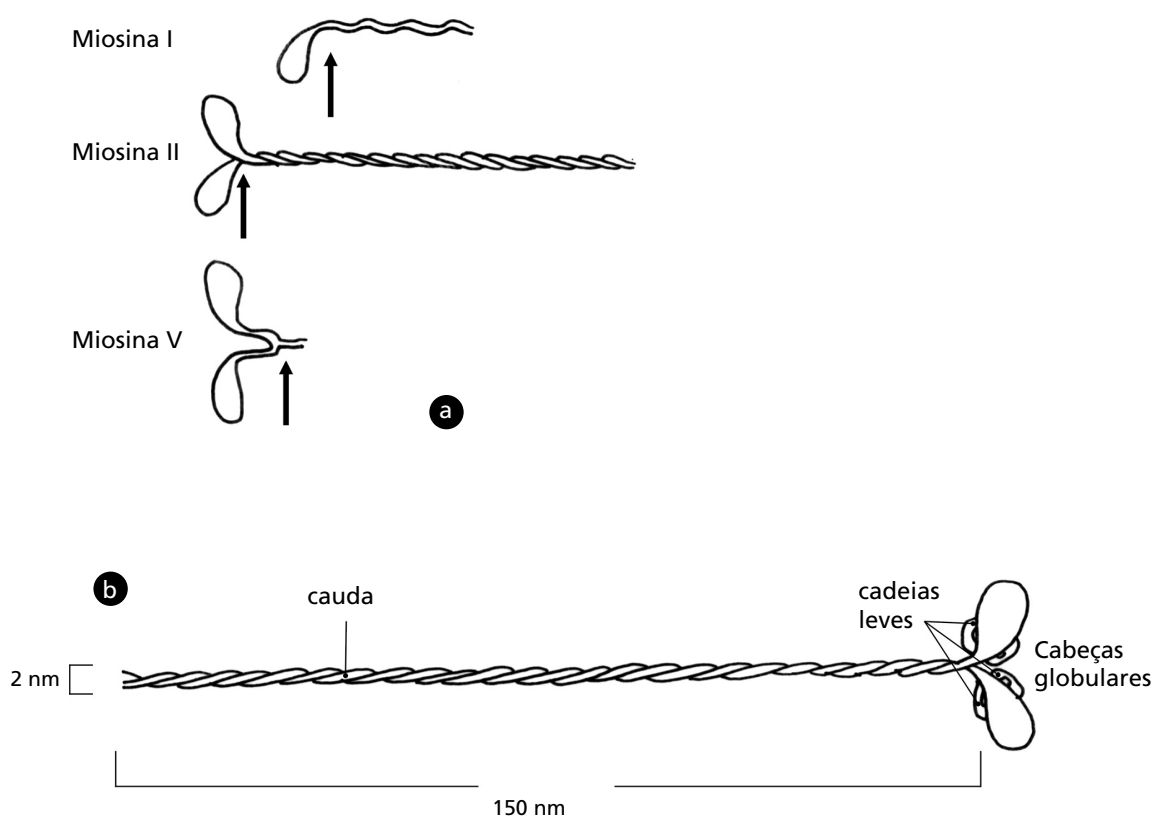


Figura 24.19 (a): Esquema comparativo das moléculas de miosina I, II e V. As setas apontam a região flexível da molécula, que se dobra para produzir o deslocamento do filamento de actina. Na miosina V, a distância entre as cabeças globulares é maior, permitindo um deslocamento maior que o da miosina II. (b) Detalhamento da organização da molécula de miosina II. Na região globular da molécula, estão localizados tanto os sítios catalíticos para a hidrólise do ATP quanto a região que se liga ao filamento de actina.

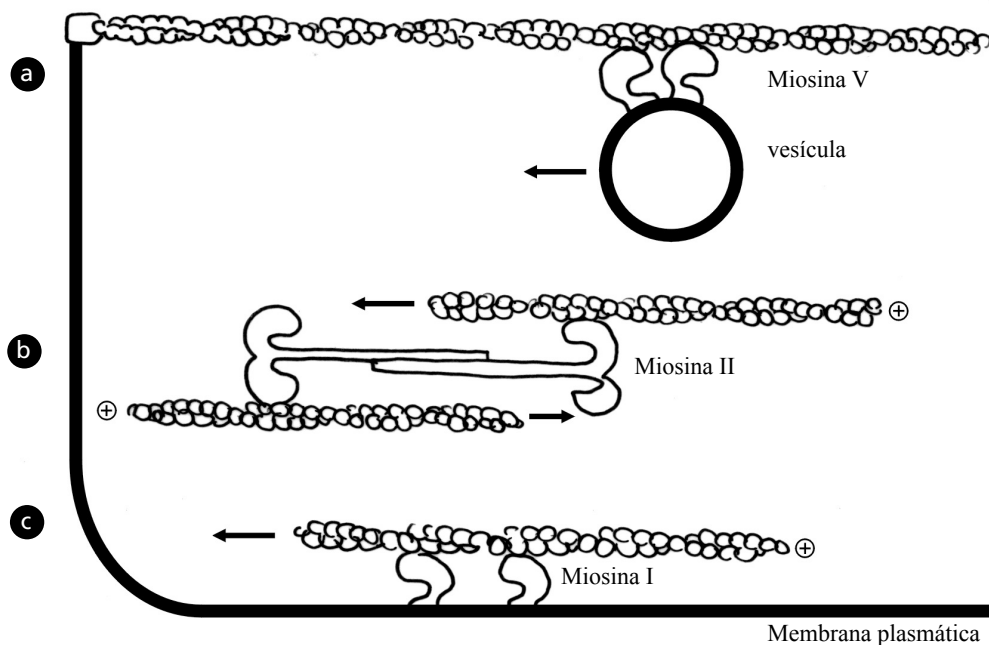


Figura 24.20: A miosina pode provocar (a) movimento de uma vesícula por sobre um filamento, (b) o deslizamento antiparalelo de dois filamentos de actina, ou (c) prender-se à membrana e puxar um microfilamento. O sinal de + indica a extremidade plus do filamento de actina.

Da interação actina-miosina dependem algumas atividades essenciais do ciclo celular. Assim, o estrangulamento que separa as células-filhas após uma divisão é resultante de um **anel de contração** formado por feixes de actina que deslizam uns em relação aos outros diminuindo o diâmetro do anel e trazendo consigo a membrana. Desse processo participam, além da actina, miosina II e proteínas que ligam o feixe de actina à membrana plasmática (**Figura 24.21**).

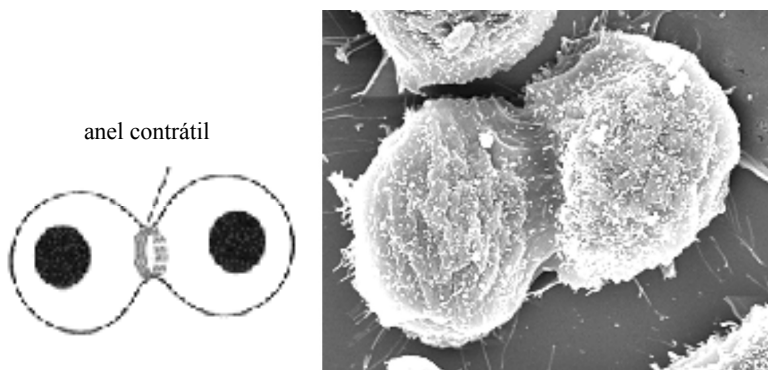
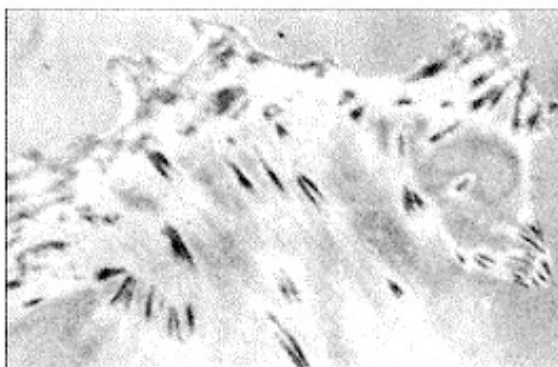


Figura 24.21: O estrangulamento que resultará na separação das células ao final da divisão depende de um anel contrátil de actina e miosina. Foto de Marcia Attias.

PERMANENTES OU TRANSITÓRIAS: AS ESTRUTURAS FORMADAS POR MICROFILAMENTOS

Enquanto nas células musculares os microfilamentos e a miosina a eles associada formam um arranjo estável, o anel de contração é uma estrutura transitória, que se forma apenas ao final da divisão celular. Em células que aderem ou se deslocam num substrato, feixes de filamentos de actina estão sempre se formando e se associando a complexos de adesão localizados na membrana plasmática. São os contatos focais (Figura 24.22). Os contatos focais, por estarem associados às fibras de tensão, conferem à célula uma resistência que a membrana plasmática (composta essencialmente por uma bicapa fluida de lipídeos) por si só não seria capaz de proporcionar. Estas regiões de adesão se reorganizam de forma dinâmica, conforme mostrado na Figura 24.15, permitindo a adesão, sem impedir o deslocamento da célula.







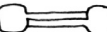
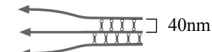
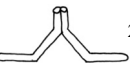


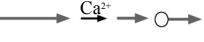

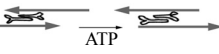

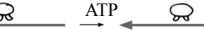
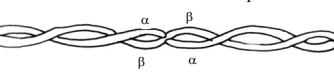



Figura 24.22: Iluminadas pelo sistema de contraste de fase, é possível ver como se distribuem as fibras de tensão numa célula aderida a um substrato. As áreas escuras correspondem aos contatos focais, regiões onde os feixes de fibras se ancoram. (foto: Grenham Ireland)



CONCLUSÕES

Os microfilamentos são certamente um dos mais versáteis componentes celulares. De acordo com as proteínas a que se associem podem formar estruturas completamente diferentes e desempenhar uma enorme diversidade de funções. Esses componentes do citoesqueleto estão presentes tanto nos eucariontes animais quanto em vegetais e fungos. Processos fundamentais como a contração muscular, o movimento e a adesão celular, o englobamento de partículas e a separação de células ao fim da mitose são todos dependentes desses filamentos. Igualmente notáveis são as miosinas, proteínas motoras que interagem com a actina. A seguir, inserimos uma tabela onde as principais características da actina e das proteínas a ela associadas estão relacionadas.

Tabela 24.1

Função da proteína	Exemplo	Forma, tamanho e peso molecular	Associação com a actina
Forma filamentos	Actina		
Fortalece o filamento	Tropomiosina	 2 x 35 kD	
Forma feixes a partir dos filamentos	Fimbrina	 68 kD	
Forma feixes a partir dos filamentos	α -actinina	 2 x 100 kD	
Forma ligações cruzadas entre filamentos	Filamina	 2 x 270 kD	
Fragmenta filamentos	Gelsolina	 90 kD	
Desliza filamentos	Miosina II	 2 x 260 kD	
Move filamentos ou vesículas	Miosina I	 150 kD	
Associa a ponta dos filamentos à membrana	Espectrina		
Seqüestra monômeros de actina	Timosina	 5 kD	

RESUMO

Os microfilamentos são filamentos formados por monômeros da proteína actina. São estruturas polarizadas, sendo a extremidade plus a que cresce mais rapidamente e a minus a de crescimento mais lento. Os microfilamentos são nucleados a partir de três monômeros de actina que se combinam a outras proteínas relacionadas à actina. Geralmente, as extremidades plus do filamento ficam voltadas para a periferia celular.

A incorporação de um monômero de actina a um microfilamento em crescimento leva à hidrólise de uma molécula de ATP aprisionada no monômero de actina.

Os microfilamentos são dotados de instabilidade dinâmica, crescendo e encolhendo a todo momento, redirecionando, assim, a forma e o deslocamento da célula.

Os microfilamentos podem estar associados a proteínas acessórias que aumentam sua estabilidade através da formação de pontes entre as subunidades de actina. A tropomiosina (veja tabela 24.1) é uma dessas proteínas. A faloidina, embora seja uma toxina, também estabiliza os microfilamentos.

As miosinas são proteínas que se associam aos microfilamentos e são capazes de promover o deslizamento entre eles ou o transporte de organelas e vesículas através do citoplasma, utilizando-os como trilhos.

Filopódios e lamelipódios são estruturas motoras de protozoários e tipos celulares como fibroblastos, microfilamentos e proteínas acessórias estruturais e motoras.

Várias drogas interferem com a dinâmica de polimerização e despolimerização dos microfilamentos e muitas delas são usadas na pesquisa.

AVALIAÇÃO

1. O que é um microfilamento?
2. Qual a relação do ATP com o crescimento de um microfilamento?
3. O que você entende por instabilidade dinâmica? Como caminha uma molécula de actina em um microfilamento?
4. Existe um centro organizador de microfilamentos?
5. De que depende a nucleação de um novo microfilamento?
6. Como atuam as drogas faloidina e citocalasina?
7. A que funções ou estruturas celulares estão relacionados os microfilamentos?
8. O que são fibras de tensão?
9. Como se organiza o anel de contração das células que se dividem?
10. Como atuam as miosinas?

Tráfego Intracelular de Vesículas

AULA 25

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender o equilíbrio entre o compartimentos das vias endocítica e secretória;
- Conhecer os mecanismos de direcionamento de vesículas.
- Enumerar os diferentes tipos de revestimento de vesículas e sua função.
- Correlacionar o mecanismo de fusão de membranas com a sua especificidade.

INTRODUÇÃO

Na aula 16, você aprendeu que as novas moléculas (proteínas, glicoproteínas, lipídios) produzidas no retículo endoplasmático passam dessa organela para o complexo de Golgi em vesículas. Depois, na aula 17, você aprendeu que para percorrer o complexo de Golgi as moléculas precisam ser colocadas em vesículas que brotam de cada lamela e se fundem com a lamela seguinte, já que as lamelas do Golgi não são contínuas. A princípio, isso pode parecer uma trabalhadeira absurda, mas como a cada lamela essas moléculas ganham cadeias de açúcar que vão sendo modificadas, com certeza o processamento dessas moléculas fica mais organizado. No final, já na rede trans do Golgi, as moléculas seguirão para a membrana plasmática ou para os lisossomos, sempre dentro de vesículas.

Repare bem, você não acha que, de tanto receber vesículas, a membrana plasmática ficaria enorme? (daria para fazer babados, ou, no mínimo, umas preguinhas...). Esse aumento da área da membrana plasmática seria muito prejudicial para a célula, já que, por conter o citoplasma fluido, o aumento de área seria acompanhado por um aumento de volume. Colocando um pouquinho de matemática nesse raciocínio, você vai lembrar que: se a área da membrana aumenta ao quadrado, o volume que ela delimita aumenta ao cubo. Se o volume da célula aumentasse muito, certamente haveria entrada de água (por osmose), o que diluiria o citoplasma, alterando o equilíbrio de todas as reações que lá se desenrolam. Por isso, acréscimos de superfície precisam estar bem controlados.

Em contrapartida, as células precisam se nutrir, inclusive de moléculas que não atravessam a membrana, e para isso endocitam o fluido extracelular. A formação de vesículas endocíticas reduz a área da membrana plasmática, contrapondo-se, assim, ao processo secretório. Observando a **Figura 25.1**, podemos ter uma idéia do trânsito de vesículas envolvidas nas duas principais vias da fisiologia celular: a endocítica e a secretória.

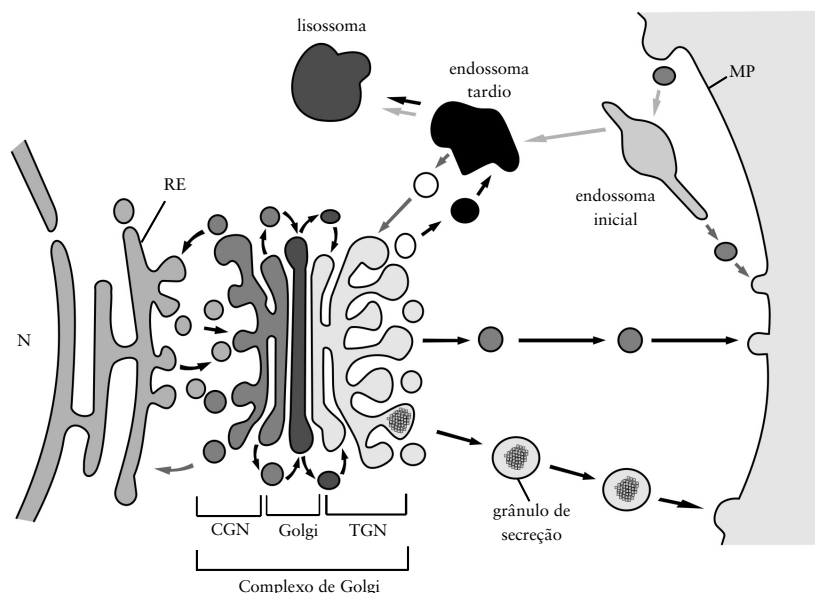


Figura 25.1: Tráfego de vesículas que transportam material do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi e daí para a membrana (via secretória) e de vesículas que transportam material endocitado para os lisossomos (via endocítica). MP, membrana plasmática; N, núcleo; RE, retículo endoplasmático; CGN, rede cis do Golgi; TGN, rede trans do Golgi.

Concluímos, então, que a área da membrana plasmática e o volume celular podem ser mantidos pelo equilíbrio entre a chegada de vesículas da via secretória e o brotamento de vesículas endocíticas. Mas será que o controle desse equilíbrio é simples? Considerando apenas a via endocítica, lembremos que, na endocitose mediada por receptor, vesículas são devolvidas à membrana quando os receptores são reciclados.

Um experimento relativamente simples buscou testar esse equilíbrio impedindo a formação de vesículas revestidas por clatrina. A idéia era perturbar o equilíbrio de área da membrana através do bloqueio de um dos tipos de endocitose. Isso foi feito eliminando o gene de uma das adaptinas (recorde na Aula 20). O resultado esperado era o aumento de área da membrana plasmática. Mas o resultado encontrado foi que, ainda assim, a área da membrana se mantinha aproximadamente constante! Isso aconteceu porque a taxa de endocitose de fase fluida aumentou. Esse experimento sugeriu que o equilíbrio é dinâmico e não tão simples.

Um ponto intrigante é: como os compartimentos intracelulares mantêm a composição de sua membrana e seu lúmen apesar de trocarem vesículas entre si? Essa questão é particularmente importante entre lamelas do Golgi. A única resposta possível parece ser que cada compartimento tem de selecionar as moléculas que farão parte de uma vesícula antes que ela se solte.

CARGA DE UMA VESÍCULA

O conjunto de moléculas que ela transporta, o que inclui não só o seu lúmen mas também as moléculas que compõem a própria membrana que a delimita.

Depois da vesícula formada, ela deve seguir pelo citoplasma transportando sua **CARGA** para o destino certo. Será que seu deslocamento pelo citoplasma é aleatório, ou seja, ela vai sendo levada pelos movimentos dos outros componentes do citoplasma?

Aleatório ou não, uma vesícula certamente encontrará pelo seu caminho citoplasmático muitas outras vesículas e compartimentos. Por que ela não se funde com o compartimento errado, levando, por exemplo, moléculas recém-sintetizadas do retículo para o lisossoma ao invés de para o Golgi?

Aliás, falando em fundir, como será que uma vesícula se funde a outra?

Como você pode ver, perguntas não faltam! Nos últimos anos, muitas delas começaram a ser respondidas. Vamos organizar o assunto tratando dos seguintes pontos: direcionamento das vesículas, sua composição incluindo a seleção da carga e por último fusão de vesículas a compartimentos.

Daqui para a frente esta aula contém muitas informações incompletas, como você poderá perceber, mas isso é devido à falta de informações sobre certos processos celulares reconhecidamente importantes. Nossa intenção é trazer as informações mais atuais. Muitas dessas informações serão supérfluas para você hoje, mas decidimos escrevê-las porque, por enquanto, não há outro texto em português que você possa usar como fonte de consulta sobre esse assunto. Não se preocupe em guardar nomes de moléculas, importante mesmo é perceber como funciona em geral o tráfego intracelular de vesículas (até onde se sabe!).

DIRECIONAMENTO

Quando analisamos as direções seguidas pelas vesículas no citoplasma de uma célula de mamífero (**Figura 25.1**), podemos perceber que as vesículas da via secretória se deslocam da região próxima ao núcleo, onde se encontram retículo endoplasmático e complexo de Golgi, para a periferia da célula, até chegar à membrana plasmática. Convencionou-se chamar essa direção de tráfego de anterógrada. Já as vesículas endocíticas se deslocam passando pelos endossomas inicial e tardio em direção aos lisossomas, que costumam estar preferencialmente na região perinuclear; essa direção de tráfego é dita retrógrada.

Com o que você aprendeu nas últimas aulas, já poderia apostar que algum tipo de filamento do citoesqueleto estaria envolvido no

direcionamento das vesículas, já que as proteínas motoras podem fazer com que vesículas ou mesmo organelas inteiras deslizem ao longo de microtúbulos ou microfilamentos. Para testar essa hipótese, um experimento simples seria usar drogas que despolimerizam esses filamentos e observar se as vesículas continuam se deslocando.

Os resultados desses experimentos foram muito interessantes. Ao despolimerizar microfilamentos usando citocalasina, as células não conseguem mais fazer fagocitose, porque a emissão de pseudópodos depende do remodelamento dos microfilamentos naquela região. Outra alteração que chamou a atenção dos pesquisadores foi o “encolhimento” do retículo endoplasmático: ao invés de se manter espalhado por uma grande área do citoplasma ele se tornou menos ramificado. Entretanto, os resultados mais marcantes foram obtidos com o uso do nocodazol, uma droga que provoca a despolimerização dos microtúbulos. Nessa situação, a via endocítica ficava bastante prejudicada, a maior parte das vesículas formadas não conseguia passar o material endocitado para os outros compartimentos, principalmente do endossoma inicial em diante (Figura 25.2). Em muitas células, a despolimerização dos microtúbulos causava a redistribuição dos lisossomos, que deixam de ser encontrados principalmente na região perinuclear para se espalhar na periferia da célula.

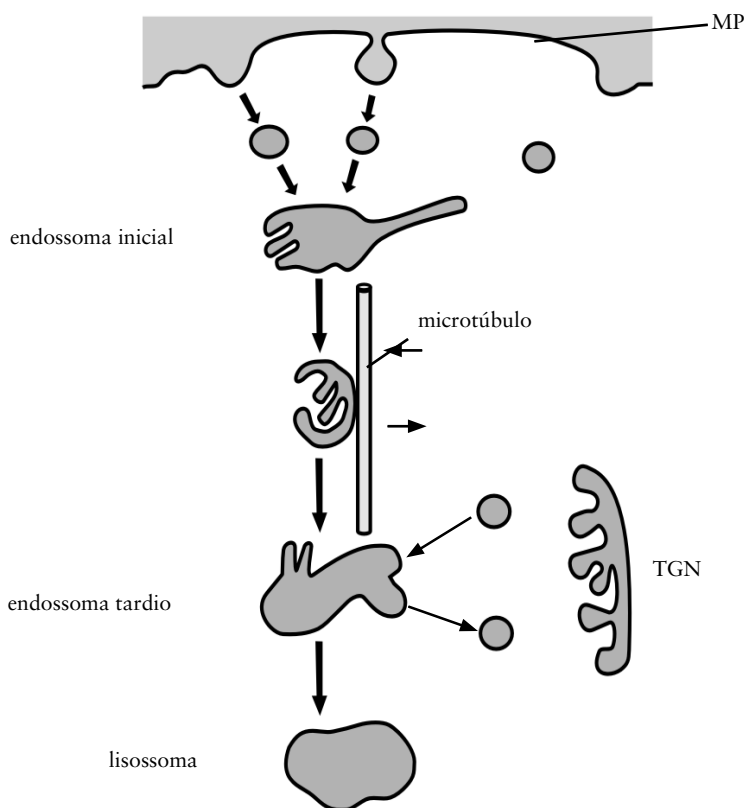
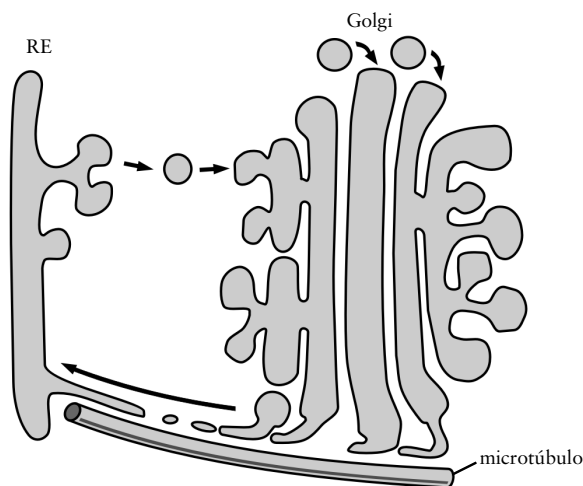


Figura 25.2: O direcionamento das vesículas transportadoras da via endocítica depende dos microtúbulos.

Não era só na via endocítica que se notavam os efeitos da despolimerização dos microtúbulos. A troca de vesículas entre retículo endoplasmático e complexo de Golgi também se mostrava alterada. Como já foi comentado antes (aula 17), a manutenção da identidade de cada uma das lamelas do Golgi é essencial, já que cada lamela reúne um conjunto de enzimas responsáveis por uma etapa da síntese de glicoconjugados. Do mesmo modo, é muito importante que proteínas mal formadas que tenham escapado para o Golgi voltem para o retículo endoplasmático, de onde serão translocadas para o citoplasma e destruídas pelo sistema ubiquitina-proteassomos (aula 18). Se os microtúbulos forem despolimerizados, também essas etapas do tráfego de vesículas deixam de acontecer (Figura 25.3).

Figura 25.3: O deslocamento de vesículas do complexo de Golgi para o retículo endoplasmático depende de microtúbulos.



Analisando em conjunto os efeitos da despolimerização de microtúbulos sobre o tráfego de vesículas, você vai notar que os trechos afetados são aqueles em que as vesículas se deslocam da região periférica para o centro da célula, portanto, na direção retrógrada. Já foi testado experimentalmente, mas você até poderia adivinhar: o tráfego retrógrado usa proteínas motoras da família das dineínas para transportar vesículas ao longo dos microtúbulos em direção à extremidade minus desses filamentos.

Quanto aos microfilamentos, alguns pesquisadores têm conseguido registrar pequenos filamentos de actina, com o aspecto de cauda de cometa, propelindo uma vesícula, assim como acontece com a bactéria *Listeria monocitogenes* (veja box na aula 24). Entretanto, essa é uma idéia ainda não muito generalizada, porque foi observada poucas vezes (Figura 25.4).



Figura 25.4: Esquema de propulsão de uma vesícula por uma cauda de filamentos de actina. Micrografias de endossomas de ovócito de rã com a cauda de actina formada. Fotos de Taunton et al. J. Cell Biol.148:519, 2000.

SELEÇÃO DA CARGA

Vimos na aula 20 que a grande eficiência da endocitose mediada por receptor se deve à concentração do conteúdo das vesículas revestidas por clatrina. O mecanismo de concentração é a reunião de vários complexos receptor-ligante na pequena área de membrana plasmática que vai formar a vesícula, graças à interação das caudas citoplasmáticas dos receptores com adaptinas e clatrina (**Figura 25.5**).

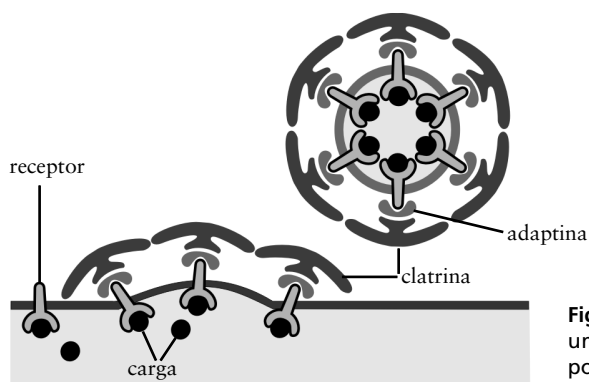


Figura 25.5: Formação de uma vesícula revestida por clatrina.

Na saída da região trans do complexo de Golgi, ocorre a mesma concentração de conteúdo, também com auxílio do revestimento de clatrina, só que com outras adaptinas. As adaptinas são grupos de proteínas que fazem pontes entre a cauda citoplasmática de receptores, na membrana plasmática ou no Golgi, e a clatrina. São conhecidos há bastante tempo dois complexos de adaptinas, o complexo AP1, que funciona no complexo de Golgi, e o complexo AP2, que funciona na endocitose mediada por receptor. Recentemente, mais dois complexos foram descobertos, o AP3, envolvido na formação de lisossomas especiais, como os melanossomas, e o complexo AP4, presente em neurônios.

Assim, na saída do Golgi, formam-se vesículas transportadoras que praticamente só contêm enzimas lisossomais e se dirigem ao endossoma tardio e depois ao lisossoma. Nesse caso, o receptor que interage com as adaptinas do complexo AP1 é o receptor de manose-6P (aula 20). Você não acha adequado que as enzimas lisossomais sejam transportadas em vesículas exclusivas? Com o conteúdo concentrado, outras proteínas são excluídas da vesícula e não irão parar no lisossoma por engano.

O mecanismo de concentração de carga também é muito adequado à formação de grânulos de secreção. Esses grânulos são formados no TGN e contêm grande quantidade de uma mesma carga. Podemos citar como exemplos os grânulos dos mastócitos, que contêm histamina, as vesículas sinápticas, que contêm acetilcolina, os grânulos de adrenalina etc. (Figura 25.6).

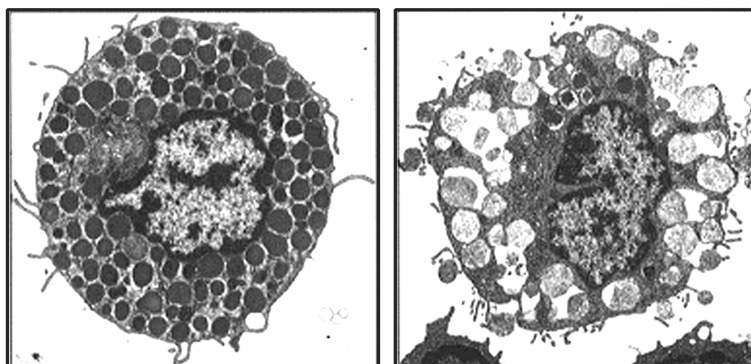


Figura 25.6: Um mastócito com o citoplasma carregado de grânulos de histamina, antes (A) e depois (B) do estímulo para exocitose. Micrografias de Lawson et al., J. Exp. Med. 142: 391, 1975.

Todos esses grânulos ficam estocados no citoplasma da célula que os produziu até que um sinal vindo de fora seja transmitido ao citoplasma (você estudou esses mecanismos nas aulas 13 e 14) e provoque a exocitose de muitos grânulos de uma vez só, aumentando a concentração do conteúdo do grânulo no meio extracelular ou até na corrente sanguínea. A exocitose de grânulos desse tipo é chamada secreção regulada, enquanto a exocitose de vesículas que não têm o conteúdo concentrado, carregando novas moléculas para a própria membrana, sem esperar ou depender de nenhum sinal, não passando por nenhuma etapa de estocagem no citoplasma, chama-se secreção constitutiva (Figura 25.7).

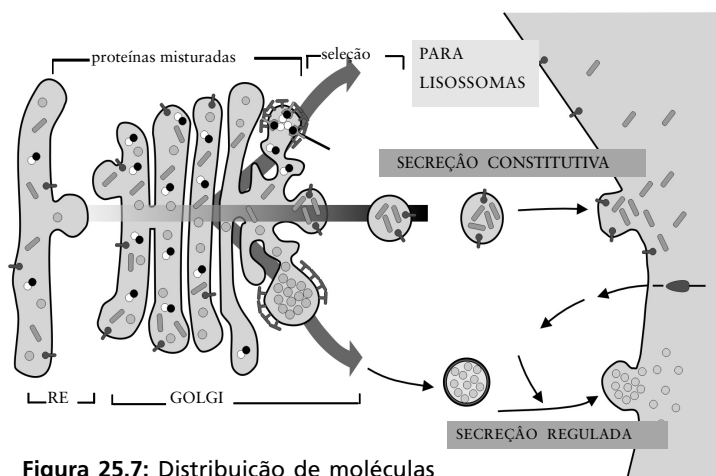


Figura 25.7: Distribuição de moléculas na região trans do Golgi.

OUTROS REVESTIMENTOS

Seguindo a idéia de que o revestimento de clatrina não serve apenas para concentrar a carga, mas também contribui para a formação da própria vesícula, os pesquisadores procuraram revestimentos citoplasmáticos em trechos do tráfego intracelular que não envolvem concentração de conteúdo, apenas sua seleção.

A busca focalizou especialmente o tráfego de vesículas entre o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi. Nas vesículas que brotam do retículo, foi encontrado o revestimento de COP II, e nas vesículas que brotam da rede cis do Golgi, foi encontrado o revestimento de COP I (Figura 25.8).

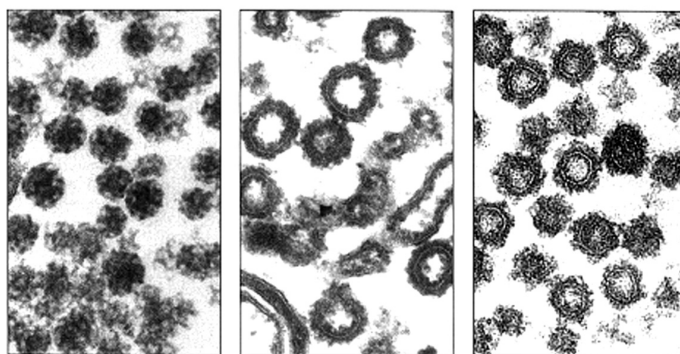


Figura 25.8: Micrografias eletrônicas de vesículas revestidas de clatrina (A), COP I (B) e COP II (C). As fotos estão na mesma escala. A e B, de Orci et al., Cell, 46:171, 1986; C, foto de Barlowe e Orci.

Esses revestimentos têm muito em comum, apesar de as proteínas que formam cada um deles serem diferentes. O revestimento de COP I é formado por sete proteínas, e o de COP II por quatro. Ambos têm em comum o mecanismo de associação com a membrana de onde a vesícula vai brotar (compartimento doador): uma GTPase monomérica serve como adaptadora do resto do revestimento.

GTPASE

MONOMÉRICA

É uma proteína formada por uma única cadeia que está ligada a GTP e é capaz de hidrolizá-lo. Assim como as outras GTPases que você conheceu na aula de sinalização celular (aula 13), essas proteínas estão ativas quando ligadas a GTP e ficam inativas depois de hidrolizá-lo.

As **GTPASE MONOMÉRICA** que regulam o tráfego intracelular têm uma outra característica em comum: são proteínas ligadas covalentemente a uma cadeia de ácido graxo, o que lhes permite inserir-se em membranas. A cadeia de ácido graxo fica exposta quando a proteína está ligada a GTP e se esconde quando a proteína está ligada a GDP. Por isso, o estado ligado a GTP é ativo e o ligado a GDP desliga a proteína da membrana, inativando sua função (Figura 25.9).

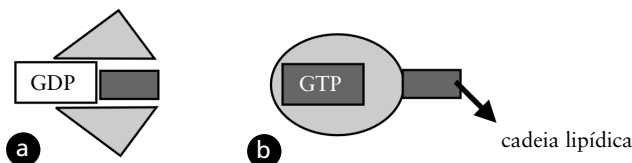


Figura 25.9: Uma GTPase fica inativa quando está ligada a GDP e tem a cadeia lipídica oculta em uma reentrância da molécula, estando solúvel no citoplasma da célula. A mesma proteína ligada a GTP expõe a cadeia lipídica e vai funcionar inserida em uma membrana.

PARADINHA ESPERTA

Atenção! Para que a GTPase ligada a GDP passe a estar ligada a GTP, é preciso que o nucleotídeo inteiro seja retirado. Logo ele será substituído por GTP, que é muito mais abundante no citoplasma que a forma GDP. A conversão direta de GDP a GTP pelo acréscimo do terceiro fosfato demanda energia e só acontece na mitocôndria, como vamos ver nas próximas aulas.

Para a formação de um revestimento do tipo COP, é preciso que as adaptadoras desse revestimento, que são GTPases solúveis no citoplasma, tenham o GDP substituído por GTP, para que exponham a cadeia lipídica e possam inserir-se na membrana do compartimento de onde a vesícula vai brotar (Figura 25.10).

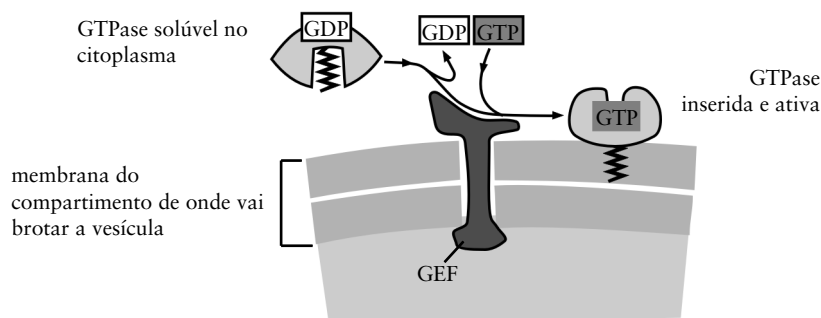


Figura 25.10: Para que a GTPase fique ativa, uma proteína da membrana do compartimento doador rouba o GDP, que logo é substituído por GTP, ativando a GTPase. A proteína que rouba o GDP é conhecida como GEF, de GTP exchanging factor.

Depois de inserida na membrana, a GTPase vai servir de adaptadora das outras proteínas do revestimento (Figura 25.11). As adaptadoras foram identificadas em leveduras e são semelhantes, mas não iguais, nas várias etapas do tráfego de vesículas. A adaptadora de COP I se chama ARF e a de COP II se chama Sar 1.

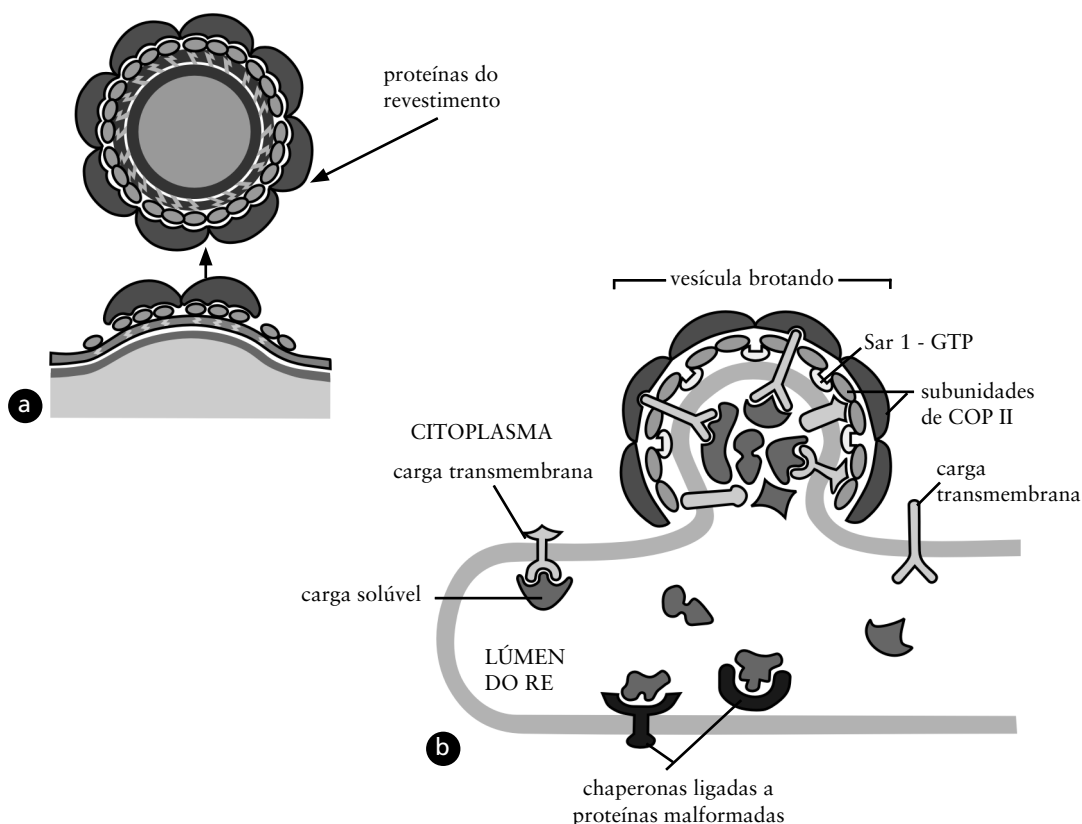


Figura 25.11: Em A, esquema representando apenas as proteínas do revestimento, inclusive a adaptadora inserida na membrana do compartimento doador. Em B, um brotamento de vesículas no retículo endoplasmático revestido por COP II e sua adaptadora Sar1, onde, além das proteínas do revestimento, foram também representadas proteínas transmembrana e proteínas solúveis do lúmen do compartimento doador que serão incluídas como carga na vesícula em formação e outras proteínas, como chaperonas, por exemplo, que sendo residentes no retículo não serão incluídas.

De novo as leveduras

Muitas etapas do tráfego intracelular de vesículas foram primeiro identificadas em leveduras. A razão disso é que é muito mais fácil produzir nesses fungos mutantes estáveis deficientes em alguma etapa do tráfego intracelular. Correlacionando o fenótipo do mutante, ou seja, a etapa que ele não consegue fazer, com o gene que foi deletado pode-se inferir qual o papel da proteína que está faltando. Os mutantes de levedura deficientes na secreção celular foram classificados como mutantes sec. A maioria das proteínas de mamífero que funcionam no tráfego de vesículas tem uma proteína correspondente em leveduras classificada como sec.

Ao contrário do revestimento de clatrina, que despolimeriza logo que a vesícula se solta do compartimento doador, as COPs continuam revestindo as vesículas até que elas atinjam seu destino. Por isso, quando os revestimentos do tipo COP foram descobertos, tentou-se correlacionar as etapas do tráfego em que cada um deles ocorria com a direção que a vesícula iria seguir, anterógrada ou retrógrada. Depois, com tantas etapas identificadas, essa idéia não ficou muito clara (Figura 25.12).

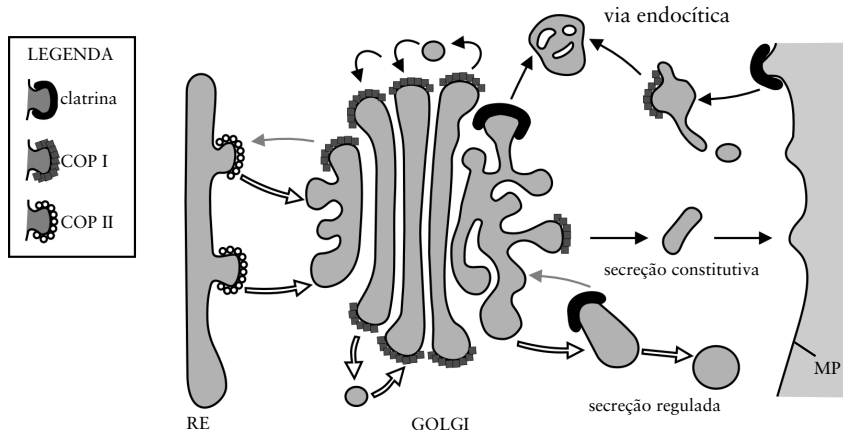


Figura 25.12: As etapas do tráfego e os revestimentos que as regulam.

FUSÃO DE MEMBRANAS E A ESPECIFICIDADE DO TRÁFEGO DE VESÍCULAS

Por que as vesículas só se fundem com o compartimento a que estão destinadas? O que significa estarem destinadas? Cada vesícula tem em sua membrana, voltado para o citoplasma, um conjunto de marcadores que será reconhecido por marcadores complementares no compartimento-alvo (Figura 25.13). Assim, todas as vesículas se fundirão ao compartimento certo.

Os dois tipos mais importantes de marcadores de membrana das vesículas e compartimentos celulares são as SNAREs e as Rabs.

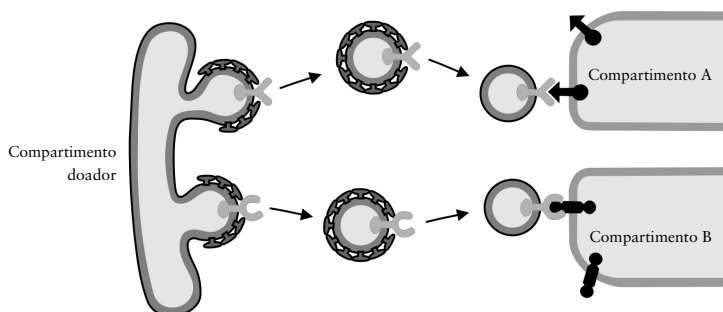
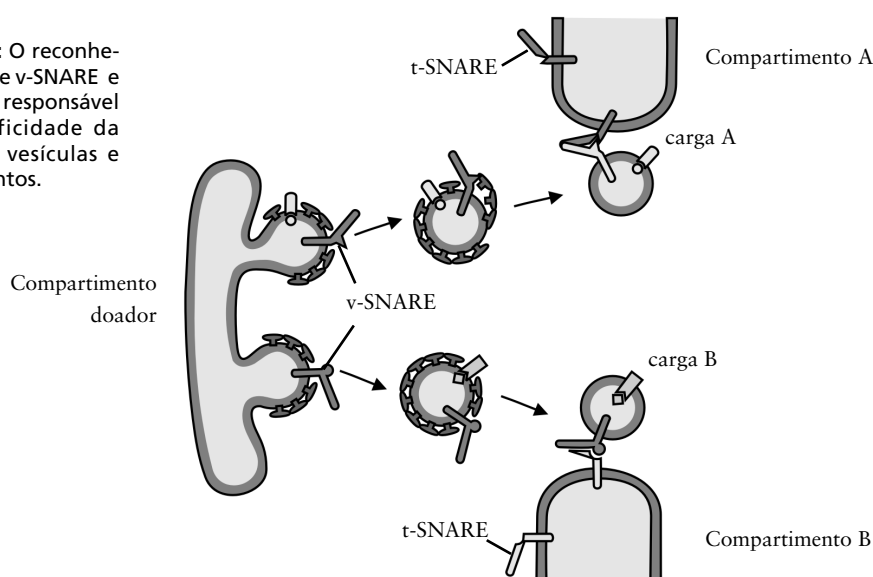


Figura 25.13: Duas vesículas que tiverem brotado do mesmo compartimento doador, mas carregando marcadores diferentes, vão se fundir com compartimentos-alvo diferentes, onde cada uma encontrará marcadores complementares.

SNARES

As SNAREs são proteínas de cadeia longa e superespiralada responsáveis pelo reconhecimento entre vesículas e compartimentos e também pela própria fusão entre suas membranas. Elas estão presentes tanto na membrana da vesícula quanto na membrana do compartimento receptor. A SNARE do compartimento doador, que vai ser incluída na vesícula que está brotando, é dita v-SNARE (de vesicle SNARE) e a SNARE complementar que está na membrana do compartimento-alvo é a t-SNARE (de target SNARE) (Figura 25.14).

Figura 25.14: O reconhecimento entre v-SNARE e t-SNARE é o responsável pela especificidade da fusão entre vesículas e compartimentos.



As SNAREs já tinham sido identificadas em leveduras (pelo método da seleção de mutantes) e em neurônios de mamífero (veja o box). Sua semelhança com proteínas virais que promovem fusão de membrana fez com que durante alguns anos se acreditasse que tinham apenas essa função. Lipossomas (vesículas compostas apenas por bicamada lipídica, sem proteínas) a que se adicionaram apenas SNAREs fundiram-se *in vitro*. Esses experimentos mostraram que apenas essas proteínas já eram suficientes para conferir especificidade aos eventos de fusão. Traduzindo: para que dois lipossomas se fundissem era necessário que estivessem carregando SNAREs complementares.

A liberação de neurotransmissores depende das SNAREs

O mecanismo de estocagem de vesículas sinápticas no terminal pré-sináptico e sua exocitose regulada na membrana do neurônio tem sido objeto de intensos estudos (você vai saber muito mais sobre o assunto em uma aula dedicada aos neurônios, em Biologia Celular II). Associados aos estudos genéticos em levedura e aos experimentos de fusão de vesículas in vitro, os resultados obtidos em neurônio formam todo o conjunto de conhecimentos atuais sobre o assunto. A estrutura do complexo SNARE formado antes da fusão de vesículas foi resolvido pelo seqüenciamento das proteínas envolvidas e modelagem molecular de sua interação (Figura 25.15).

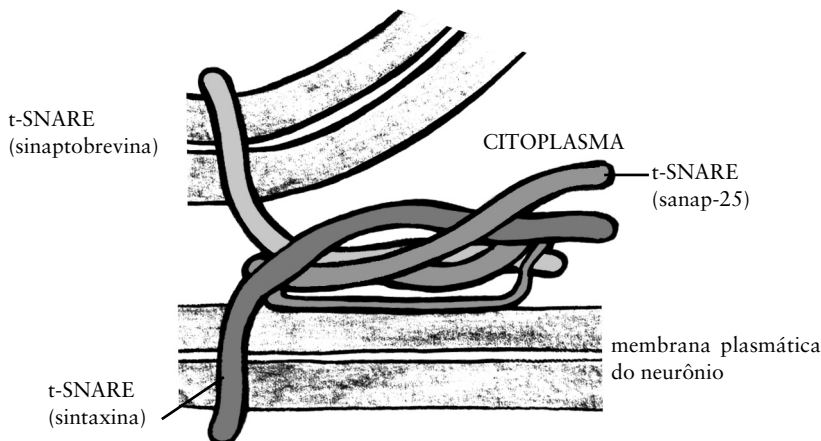
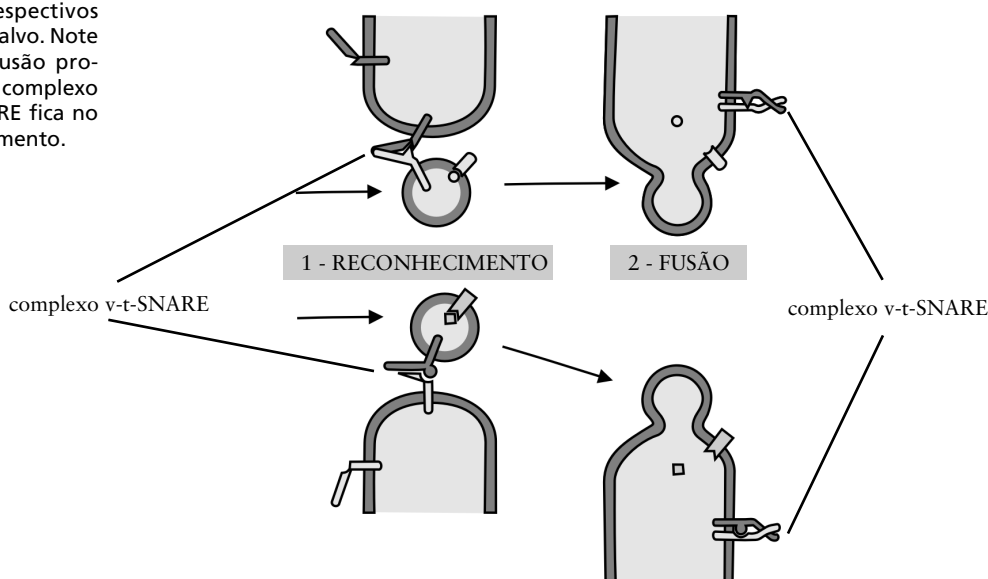


Figura 25.15: Quando uma vesícula sináptica vai ser exocitada, a sinaptobrevina (v-SNARE) que está em sua membrana será reconhecida pela syntaxina e pela snap-25 (t-SNAREs) que estão na face citoplasmática da membrana do neurônio.

A fusão de membranas pode ser dividida em duas etapas:

1) ancoramento (docking): as SNAREs da vesícula e do compartimento se reconhecem e a vesícula ali se ancora (Figura 25.16).

Figura 25.16: Etapas da fusão entre duas vesículas, que levam cargas diferentes, a seus respectivos compartimentos-alvo. Note que depois da fusão propriamente dita o complexo v-SNARE e t-SNARE fica no mesmo compartimento.



2) fusão propriamente dita: as SNAREs mudam de conformação puxando as membranas da vesícula e do compartimento uma de encontro à outra, tornando-as tão próximas que a água que separa as duas bicamadas é excluída, possibilitando a fusão. O próprio processo de fusão das duas bicamadas passa por etapas, mas estas são tão rápidas que ainda não é possível discriminar experimentalmente, sendo estudadas por hipóteses baseadas nas propriedades físico-químicas das bicamadas lipídicas (**Figura 25.17**).

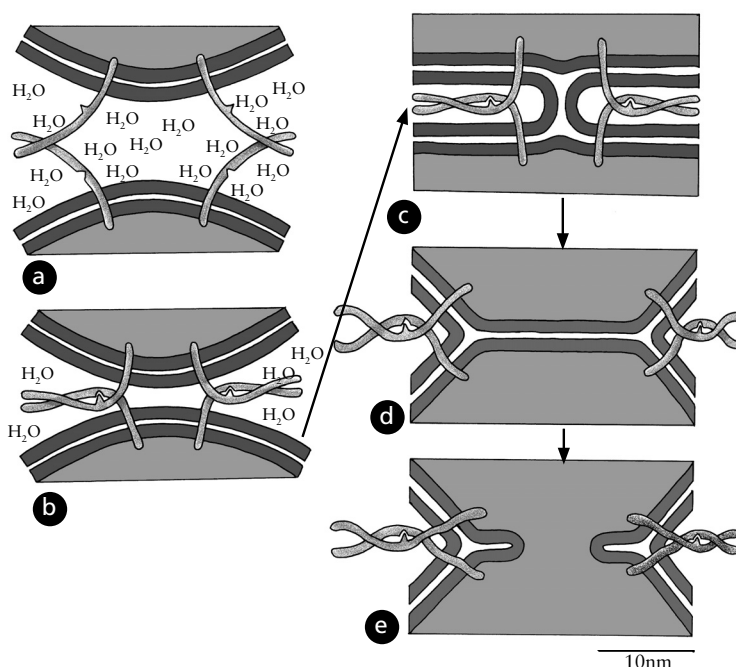


Figura 25.17: As etapas hipotéticas do processo de fusão de membranas. Em A, a vesícula se aproximou do compartimento-alvo e os complexos v-t SNARE se reconheceram, levando a uma mudança de conformação que os aproxima (b), chegando a excluir a água da área entre as duas membranas. Com o contato estreito forçado pelas SNAREs, forma-se um "poro de fusão" (c), que transforma as duas bicamadas em uma só (d), que termina por se romper (e).

Volte à **Figura 25.16** e repare que as duas SNAREs, a que veio com a vesícula e a que estava no compartimento, passaram a estar na mesma membrana, o que inviabiliza sua função. Para separá-las, é necessário ATP e o trabalho de proteínas auxiliares. A mais conhecida é chamada NSF, uma espécie de chaperona solúvel no citoplasma, que pode agir, com a ajuda de proteínas adaptadoras, na separação de complexos v-t SNARE de qualquer membrana (**Figura 25.18**). Depois de separar o complexo, a SNARE que veio com a vesícula pode voltar ao seu compartimento de origem, numa nova vesícula que vai brotar, fazendo o caminho de volta.

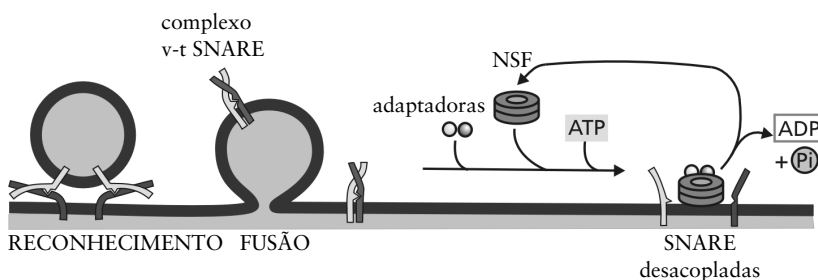
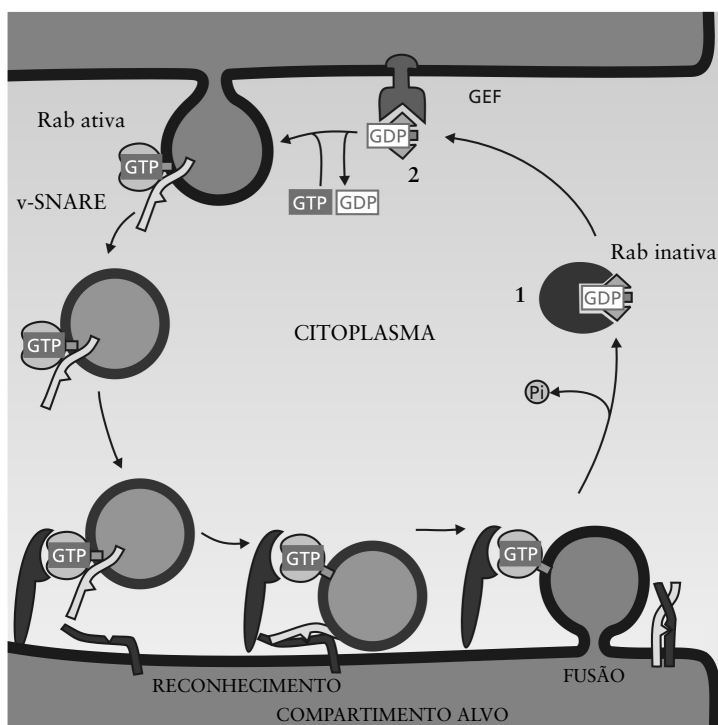


Figura 25.18: O mecanismo de separação das SNAREs.

A ESPECIFICIDADE DOS PROCESSOS DE FUSÃO DE VESÍCULAS TEM GARANTIAS: O PAPEL DAS RABS

As Rabs também são marcadores de vesículas, assim como as SNAREs, e agem em conjunto com elas para garantir a especificidade do processo de fusão, ou seja, para garantir que uma vesícula não vá se fundir acidentalmente com o compartimento errado. Rabs são GTPases monoméricas que têm uma cadeia lipídica exposta no estado ativo – ligado a GTP – e escondida no estado inativo – ligado a GDP – quando então a Rab fica solúvel no citoplasma, exatamente como na **Figura 25.9**. Veja na **Figura 25.19** como as Rabs agem em conjunto com as SNAREs.

Figura 25.19: No compartimento doador, a Rab será ativada por uma GEF (como na figura 25.10), que rouba seu GDP e substitui por GTP, causando a exposição da cadeia lipídica e a conseqüente inserção na membrana daquele compartimento (é a membrana que está mais perto e a cadeia lipídica precisa se esconder da água rápido!). No compartimento-alvo a Rab será reconhecida por uma molécula que vai prendê-la, funcionando como receptor, e depois estimular sua atividade GTPásica. Ao hidrolizar o GTP, a Rab volta ao estado solúvel no citoplasma.



Nem todas as funções das Rabs são conhecidas. Enquanto uma Rab está ativada e inserida em uma membrana, ela pode ativar outras moléculas, que são ditas efetoras de Rab. Dentre os efetores de Rab, supõe-se que estejam as moléculas que interagem com as proteínas motoras e fazem as vesículas deslizarem ao longo de microtúbulos.

Sopa de letrinhas

Você achou complicados os nomes das moléculas nesse assunto de fusão de membranas? Realmente fica mais fácil de entender esses nomes se a gente sabe de onde eles saíram. Um dos primeiros resultados dos experimentos programados para estudar os fatores que regulam a fusão entre os compartimentos celulares foi usando uma droga que bloqueava completamente todos os processos de fusão de membrana, a N-etilmaleimida. O próximo passo foi identificar a molécula que era sensível a essa droga: era o NSF, fator sensível a N-etilmaleimida (N-etilmaleimide sensitive factor). Mais alguns estudos e descobriram que o NSF não agia sozinho, precisava de auxiliares, que foram coletivamente chamadas SNAP (soluble NSF adaptor proteins, proteínas solúveis adaptadoras de NSF). Pouco tempo depois, foram identificadas, sempre em leveduras ou neurônios, as proteínas de membrana às quais o NSF e o SNAP se acoplavam: finalmente eram descobertas as SNARE (SNAP receptors, receptores de SNAP).

Rabs, uma grande família

As Rabs e as adaptadoras de COP I e II (chamam-se ARF e Sar1, respectivamente) são componentes da superfamília Ras das GTPases monoméricas, à qual também pertencem outras moléculas que você já conhece, como a própria Ras (aula 14), a dinamina (aula 20), a tubulina (aula 23), e outras que você ainda vai conhecer em Biologia Celular II, como Rac e Rho (funcionam no controle do ciclo celular) e Ran (funciona no transporte entre núcleo e citoplasma). Elas têm em comum a característica de funcionarem como um interruptor molecular, que liga quando associado a GTP e desliga quando associado a GDP. Com quase 40 membros conhecidos, a subfamília das Rab é sem dúvida a maior de todas. Cada compartimento celular tem pelo menos uma Rab característica em sua membrana. Veja quadro 25.1 a seguir.

Proteína	Organela
Rab 1	Retículo e Golgi
Rab 2	Rede cis do Golgi
Rab 3A	Vesículas sinápticas, grânulos de secreção
Rab 4	Endossoma de reciclagem
Rab 5A	Membrana plasmática, vesículas revestidas de clatrina
Rab 5C	Endossoma inicial
Rab 6	Golgi medial e trans
Rab 7	Endossoma tardio
Rab 9	Endossoma tardio
Rab 11	Endossoma de reciclagem

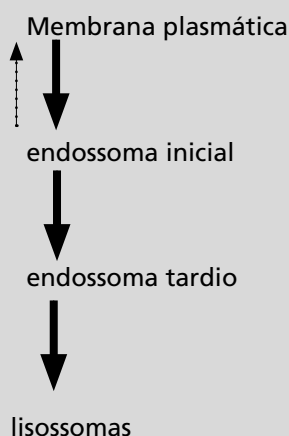
RESUMO

O tráfego intracelular de vesículas está organizado em duas direções:

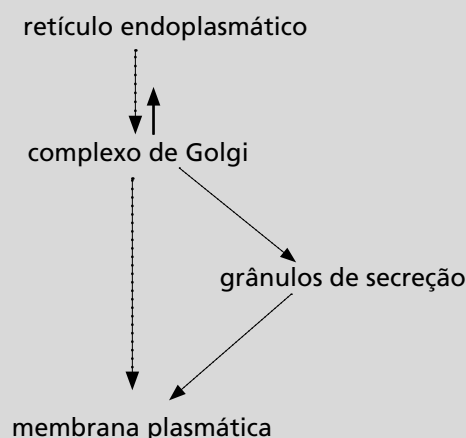
TRÁFEGO RETRÓGRADO

TRÁFEGO ANTERÓGRADO

(setas cheias)



(setas pontilhadas)



As setas maiores representam a direção majoritária e as menores representam tráfego em menor escala, geralmente vias de reciclagem.

O tráfego retrógrado depende de microtúbulos.

A secreção de vesículas da rede trans do Golgi para a membrana plasmática pode ser:

- constitutiva, reciclando elementos da própria membrana;
- regulada, ficando estocada no citoplasma, aguardando um sinal para exocitose.

Além da via endocítica, o revestimento de clatrina também funciona no complexo de Golgi, concentrando o conteúdo de vesículas de secreção regulada ou que vão para os lisossomas.

Os revestimentos de COP I e II funcionam selecionando a carga que será incluída em vesículas que brotam do retículo e do complexo de Golgi, mas não concentram o conteúdo.

As vesículas possuem marcadores moleculares em sua face citoplasmática. Esses marcadores regulam a especificidade do tráfego e medeiam a fusão de vesículas.

Os marcadores de vesículas do tipo SNARE promovem a fusão das membranas aproximando as bicamadas até que se fundam.

Os marcadores Rab garantem a especificidade do tráfego e identificam os compartimentos.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer as principais características das membranas e compartimentos mitocondriais.
- Discutir a origem simbiótica de mitocôndrias e cloroplastos.

Pré-requisitos

Conhecer as características de fluidez e permeabilidade das membranas biológicas.

Saber as características de eucariotos e procariotos.

INTRODUÇÃO

Muito antes do surgimento dos seres eucariontes, todas as reações metabólicas que resultam na geração de energia já eram executadas em sistemas procariotes ou mesmo pré-bióticos. Nos seres vivos atuais, a energia produzida nesses sistemas é armazenada em moléculas como o ATP e o NADH.H⁺ e utilizada para geração de calor (nos seres homeotérmicos), movimentos (como o batimento ciliar), na síntese de novas moléculas e outros processos essenciais para a manutenção da vida celular. Duas organelas se destacam na produção de ATP para as células: mitocôndrias e cloroplastos. Estes últimos, você sabe, só existem nos vegetais e serão estudados mais adiante neste mesmo módulo. Nesta aula e na próxima, vamos tratar das mitocôndrias.

Na disciplina de Bioquímica, você viu que as mitocôndrias produzem ATP, a principal molécula armazenadora de energia, em dois conjuntos de reações: o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória.

As mitocôndrias estão entre as organelas mais conhecidas, sendo estudadas há muito tempo. A razão do interesse tão antigo por essa organela pode estar baseada em dois fatores:

- a facilidade com que as mitocôndrias podem ser visualizadas, já que estão acima do limite de resolução do microscópio óptico;
- são muito antigos os registros do consumo de O₂ e liberação de CO₂ por células vivas, assim como a associação dessa atividade com a produção de ATP.

Mitocôndria, ontem e hoje

Mais de 100 anos após sua descoberta, sabemos muito sobre a produção de ATP nas mitocôndrias e conhecemos sua enorme importância para a sobrevivência das células. No entanto, essa interessante organela ainda pode nos surpreender: há menos de 10 anos foi descoberto e vem sendo estudado seu papel central na morte celular programada; ainda há muito por descobrir, como você vai saber em Biologia Celular II.

AS MITOCÔNDRIAS EXISTEM EM TODAS AS CÉLULAS EUCARIÓTICAS?

As mitocôndrias estão presentes no citoplasma de quase todas as células eucarióticas, incluindo animais, vegetais, fungos, protozoários e algas. As exceções são protozoários que vivem em ambientes anaeróbicos: amebas, *Giardia* e *Trichomonas*.

MITOCÔNDRIAS EM FORMAS E NÚMEROS

Como já mencionamos anteriormente, é possível observar mitocôndrias ao microscópio óptico sem qualquer tipo de processamento ou coloração porque seu tamanho, entre 0,5 e 1µm, está acima do limite de resolução do microscópio. Além disso, a observação de mitocôndrias também foi facilitada pela descoberta de que um corante histológico, o verde Janus, associa-se especificamente a essa organela. Mas, para usar o corante, as células precisam ser fixadas; portanto, estarão mortas quando forem observadas. Assim, foi possível observar que o número de mitocôndrias variava entre diferentes tipos celulares; da mesma forma, também era evidente que algumas mitocôndrias eram mais arredondadas, outras mais alongadas. A maioria dos tipos celulares possui muitas mitocôndrias, de novo com exceção de alguns **PROTOZOÁRIOS** (vide box).

Pelo menos dois grupos de **PROTOZOÁRIOS**, os tripanosomatídeos – que incluem o *Trypanosoma cruzi*, agente da doença de Chagas, e as *Leishmanias*, que causam as leishmanioses tegumentar e visceral – e os Apicomplexa – que incluem *Toxoplasma* e *Plasmodium*, agentes causadores, respectivamente, da toxoplasmose e da malária – possuem apenas uma mitocôndria. Nesses protozoários, a mitocôndria é bastante grande e pode ser ramificada.

MITOCÔNDRIAS EM MOVIMENTO

Depois que foi possível observar as mitocôndrias em células vivas, os pesquisadores se surpreenderam com a dinâmica dessas organelas: elas se dividem por fissão e também se fundem com muita frequência, de modo que o número de mitocôndrias numa célula é o resultado do equilíbrio entre a fissão e a fusão das várias mitocôndrias existentes.

O aperfeiçoamento das técnicas de videomicroscopia e a descoberta de um **CORANTE VITAL** fluorescente, a rodamina 123, que se concentra em mitocôndrias apenas se elas estiverem funcionando, permitiu a observação da distribuição das mitocôndrias nas células, seu formato alongado, o equilíbrio dinâmico entre fissão e fusão das organelas e seu deslocamento, rápido e direcionado.

CORANTE VITAL

É aquele que só cora células vivas. Existe ainda outra classe de corante que evidencia células vivas: os corantes de exclusão. As células vivas são capazes de impedir a entrada dos corantes de exclusão, que assim só entram em células mortas.

Usando a rodamina 123, foi possível observar que as mitocôndrias são capazes de se deslocar usando microtúbulos como trilhos (**Figura 26.1**) e, diferentemente de outras organelas que também se deslocam usando o citoesqueleto (por exemplo, vesículas secretórias), as mitocôndrias se deslocam nas duas direções, para a extremidade *minus* ou para a extremidade *plus*, associando-se ora à dineína ora à kinesina.

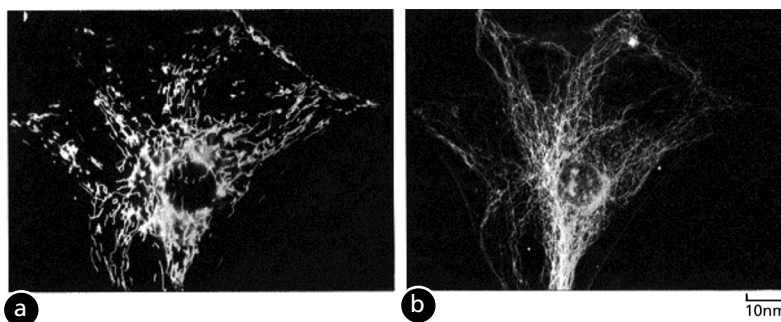
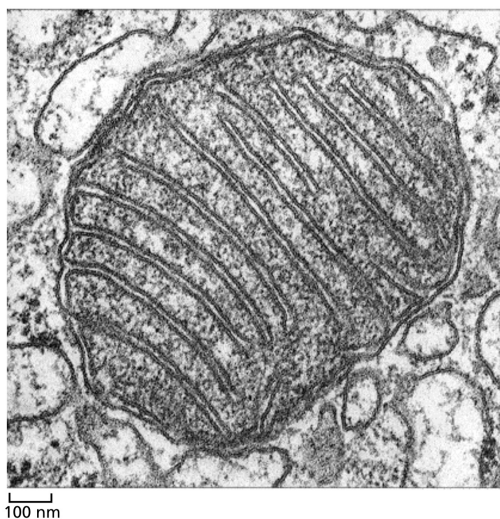


Figura 26.1: Distribuição das mitocôndrias (a) num fibroblasto vivo corado com rodamina 123. Note o formato alongado das organelas. Depois de fixada, a mesma célula foi incubada com anticorpos antitubulina num procedimento de imunofluorescência (b), que revelou a grande coincidência entre a distribuição de mitocôndrias e microtúbulos. Fotos: Lan Bo Chen.

Evidentemente, a ultra-estrutura das mitocôndrias só pode ser observada ao microscópio eletrônico. Em cortes ultrafinos, observamos que as mitocôndrias possuem duas membranas, a mais interna, com invaginações chamadas cristas, e uma matriz eletrondensa (**Figura 26.2**).

Figura 26.2: Micrografia eletrônica de transmissão de um corte ultrafino de mitocôndria. Note as invaginações da membrana mitocondrial interna, formando as cristas, e a matriz eletrondensa. Foto: Daniel Friend.



No entanto, só a observação em microscópio de alta voltagem (veja a Aula 2) permitiu a visualização do formato alongado e fino das mitocôndrias, com ramificações que podem ser processos de fissão ou de fusão (**Figura 26.3**).

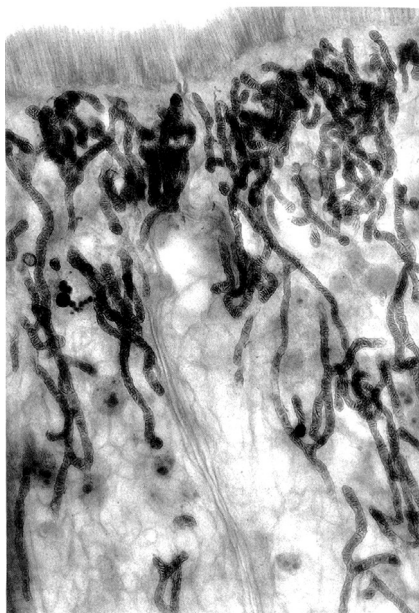


Figura 26.3: Mitocôndrias alongadas em células de epitélio de caramujo observadas ao microscópio de alta voltagem. As mitocôndrias são muito mais eletrondensas do que o citoplasma e se concentram na região apical da célula. É possível observar cristas e ramificações. Foto de Pierre Favard.

O número de **MITOCÔNDRIAS** presentes no citoplasma de uma célula eucariótica pode variar de algumas dezenas a milhares, dependendo da necessidade de energia daquele tipo celular naquele momento. Se a demanda por ATP se mantiver alta por algum tempo, a quantidade de mitocôndrias aumentará.

PARA ONDE SE MOVEM AS MITOCÔNDRIAS?

Você pode notar, comparando as Figuras 26.1 e 26.3, que o posicionamento das mitocôndrias no citoplasma das células varia muito. Na Figura 26.4, esquematizamos a distribuição de mitocôndrias nos dois tipos celulares das fotos citadas.

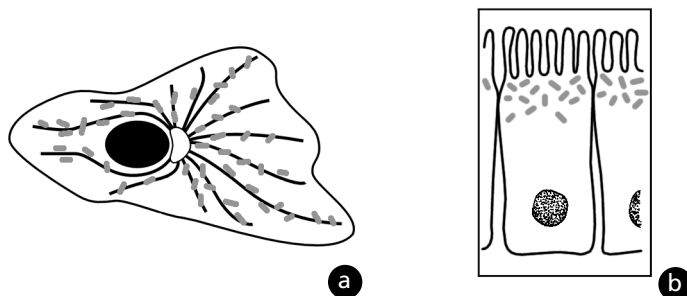


Figura 26.4: Em células como os fibroblastos (a) as mitocôndrias se distribuem acompanhando os microtúbulos. Já no epitélio de absorção (b), as mitocôndrias se concentram na região apical, onde ocorre a absorção de nutrientes.

A MULTIPLICAÇÃO DAS MITOCÔNDRIAS

Como assim, a quantidade de mitocôndrias aumenta? Quer dizer que elas proliferam? Sim! Elas se dividem independentemente do ciclo celular, ou seja, de modo não coordenado com a divisão da própria célula. Claro que você lembrou que as mitocôndrias têm DNA! Você também já conhece a hipótese de que as mitocôndrias se originaram de procariotos fagocitados pelo eucarioto ancestral (ou célula pré-eucariótica, reveja a Figura 15.3, na Aula 15) que se tornaram simbiotes. Ao longo desta aula, vamos colecionar semelhanças e diferenças entre mitocôndrias e procariotos. Segure só um pouquinho mais a curiosidade que a gente já vai conversar sobre isso, mais adiante.

Não apenas isso, na maioria das células, elas se deslocam muito, como se *corressem* ao longo dos microtúbulos para atender à necessidade de ATP em diferentes pontos da célula (**Figura 26.4a**). Em alguns tecidos, essa necessidade é alta (**Figura 26.4b**) e muito localizada, fazendo com que as mitocôndrias fiquem “paradas” nesses locais. O “parada” está entre aspas porque mitocôndrias na verdade nunca estão paradas; mesmo sem se deslocar, elas têm uma vibração que resulta do grande movimento de cargas associado às suas membranas, como veremos na próxima aula. Bons exemplos de células em que as mitocôndrias estão imobilizadas são o espermatozóide e o tecido muscular cardíaco. No espermatozóide (**Figura 26.5**), todas as mitocôndrias se encontram na cauda, isto é, no flagelo, enroladas ao redor do axonema. Como você provavelmente sabe, um espermatozóide precisa nadar sem parar no trato urogenital feminino, buscando o óvulo. Para garantir que não falte ATP para as dineínas flagelares (veja a Aula 23), as mitocôndrias estão bem ali ao lado. Essa localização das mitocôndrias do espermatozóide somente no flagelo tem uma consequência interessante: como na maioria dos processos de fertilização dos mamíferos o flagelo do espermatozóide não entra no ovócito, todas as mitocôndrias do zigoto serão herdadas da mãe (herança uniparental).

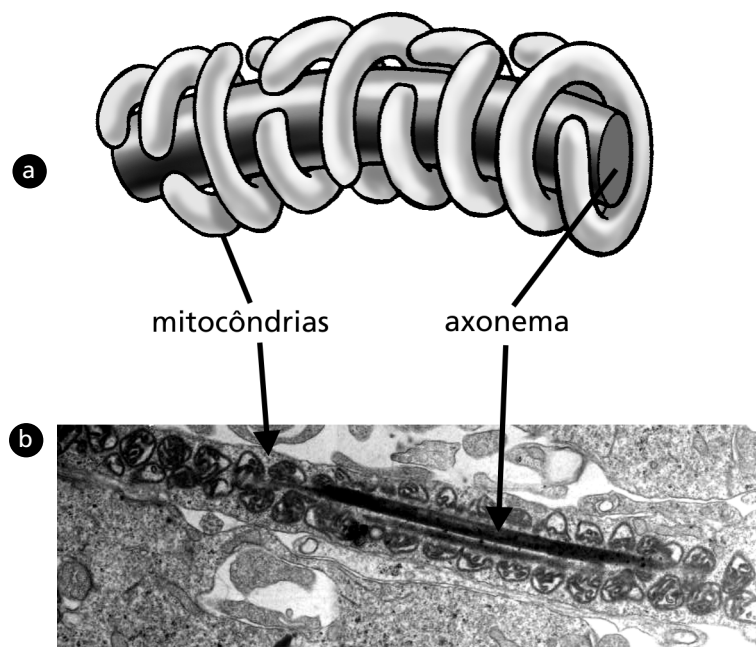


Figura 26.5: Esquema (a) e micrografia (b) mostrando mitocôndrias ao redor do axonema do flagelo do espermatozóide. Foto da coleção do Laboratório de Microscopia Eletrônica da Uerj.

No coração, as mitocôndrias ficam comprimidas entre as miofibrilas do músculo cardíaco, garantindo que não falte ATP para a contração. O substrato para a produção de ATP também pode estar associado, na forma de gotículas de gordura (Figura 26.6). Você já pensou se para contrair o músculo cardíaco dependesse da chegada de ATP por difusão, a partir de mitocôndrias que estivessem distantes?

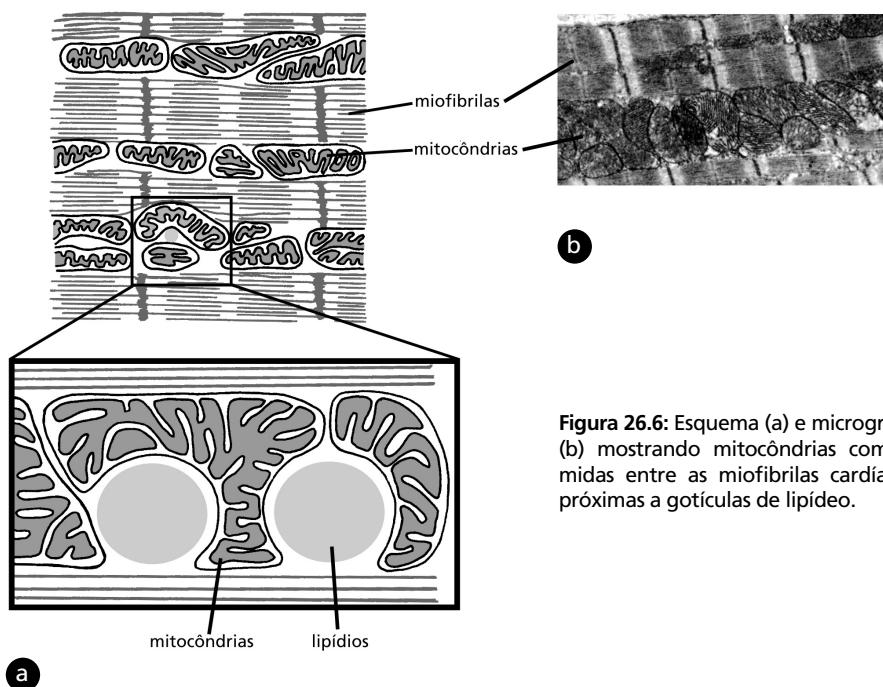


Figura 26.6: Esquema (a) e micrografia (b) mostrando mitocôndrias comprimidas entre as miofibrilas cardíacas, próximas a gotículas de lipídeo.

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DAS MEMBRANAS E COMPARTIMENTOS MITOCONDRIAIS

As mitocôndrias são delimitadas por duas membranas não coladas, uma externa e uma interna, que assim definem dois compartimentos, o espaço intermembranar e a matriz mitocondrial. As principais características de cada um desses componentes foram estudadas separadamente, em experimentos de fracionamento celular (Figura 26.7). Em seguida, examinaremos essas características.

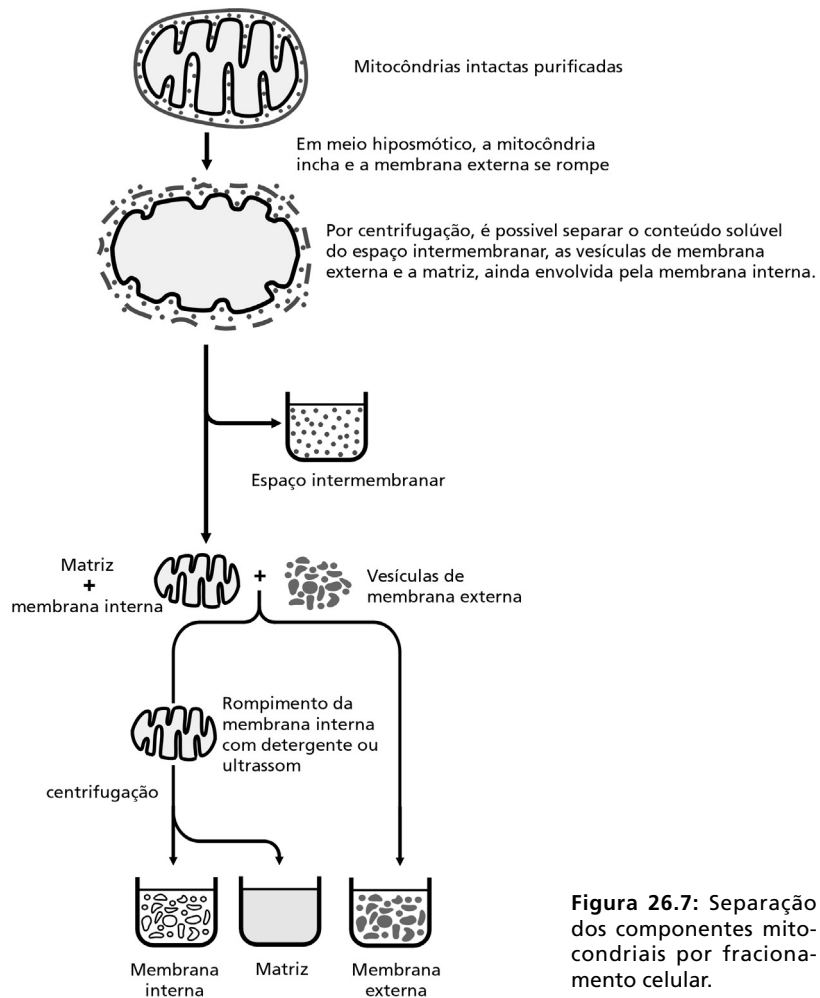


Figura 26.7: Separação dos componentes mitocondriais por fracionamento celular.

DALTON

É uma unidade de massa ou raio molecular, que expressa a velocidade com que uma molécula sedimenta por ultracentrifugação. A velocidade de sedimentação varia também com as características do líquido em que ela está dissolvida (densidade, viscosidade), e a velocidade de ultracentrifugação.

Membrana mitocondrial externa – é uma membrana cuja bicamada lipídica não possui características especiais, assemelhando-se à bicamada lipídica do retículo endoplasmático. Já as proteínas inseridas nessa membrana são especiais. Podemos citar como típica dessa membrana e essencial para o funcionamento da organela a presença da **porina**. A porina é uma proteína transmembrana (reveja a **Figura 8.8**) que tem uma conformação tridimensional tão diferente que forma um poro hidrofílico, permitindo a passagem de moléculas com até 5000 **DALTONS** pela membrana mitocondrial externa. Ou seja, devido à presença da porina, a membrana mitocondrial externa **não** forma uma barreira para íons e pequenas moléculas. Curiosamente, a porina da membrana mitocondrial externa é muito similar a proteínas formadoras de poros encontradas na membrana de bactérias Gram negativas.

Além da porina, a membrana externa da mitocôndria possui complexos transportadores que reconhecem seqüências sinalizadoras para importação de proteínas e as transportam do citoplasma para dentro da mitocôndria. Vamos conhecer mais sobre esses complexos adiante.

Espaço intermembranar – como a membrana externa não forma uma barreira, a composição iônica desse compartimento é semelhante à do citoplasma. Esse espaço nada teria de especial, não fosse a presença dos **complexos enzimáticos de interconversão de nucleotídeos**. Parece complicado? Na verdade só as palavras são complicadas. Você já viu, em Bioquímica, e vamos relembrar na próxima aula, que o metabolismo mitocondrial produz muito ATP, mas só uma molécula de GTP por volta do ciclo de Krebs. Você já sabe também que a célula usa GTP e outros nucleotídeos trifosfatados em vários processos de sinalização interna para polimerizar microtúbulos, para transportar vesículas etc. Claro que a produção mitocondrial de GTP não ia dar nem para a saída! Mas a *esperta* da mitocôndria consegue transferir o fosfato do ATP diretamente para um GDP, formando GTP (e ADP, claro, mas este volta para a matriz mitocondrial para ser refosforilado). Isso também funciona para formar CTP e UTP, nucleotídeos usados na adição de açúcares. Essa conversão é irreversível, isto é, os outros nucleotídeos não conseguem devolver o fosfato para o ADP. Os complexos enzimáticos que fazem isso são solúveis, mas são grandes demais para sair pela porina, e assim ficam presos logo ali no espaço entre as membranas (**Figura 26.8**), esperando os ATPs recém-formados para “roubar” o fosfato de alguns e transferir para GDP, CTP e UTP (não parece a história do Robin Hood, que tirava dos ricos para dar aos pobres?).

O ATP, adenosina trifosfato, é o nucleotídeo fosfatado mais conhecido na geração de energia. Além dele, existem também o GTP, guanidina trifosfato, importante na polimerização de microtúbulos e na sinalização celular; o CTP, citosina trifosfato, e o UTP, uridina trifosfato, que atuam na adição de açúcares.

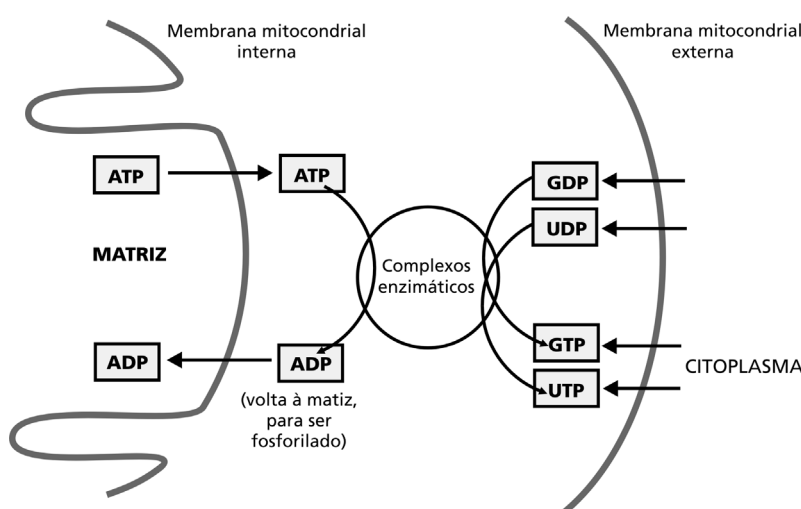


Figura 26.8: Os complexos enzimáticos existentes no espaço intermembranar transferem o fosfato de parte do ATP produzido para outros nucleotídeos, como o UDP e o GDP.

Membrana mitocondrial interna – essa membrana, sim, é muito especial. É a bicamada lipídica **mais fluida** e **menos permeável** de uma célula. Você lembra que as membranas são tanto mais fluidas quanto mais fosfolipídeos com cadeias de ácido graxo curtas e insaturadas e menos colesterol tiverem? A bicamada da membrana mitocondrial interna tem fosfolipídeos com essas características e não possui **nenhum colesterol**. É importantíssimo que ela seja bastante fluida porque o funcionamento da cadeia transportadora de elétrons depende do choque entre as moléculas. Já a quase impermeabilidade (*quase*, porque a membrana mitocondrial interna é permeável à água e a gases, como O_2 , CO_2 e NO) é atribuída a um fosfolipídeo especial: a **cardiolipina**. A cardiolipina tem esse nome porque foi descrita primeiro em mitocôndrias do músculo cardíaco, mas depois foi encontrada em todas as mitocôndrias. Esse fosfolipídeo é resultado da junção de duas fosfatidilcolinas, formando um fosfolipídeo com quatro cadeias de ácido graxo (*é quadrúpede!*). Dessa forma, a área ocupada pela cabeça polar corresponde ao dobro do número de cadeias hidrofóbicas na região hidrofóbica da membrana (**Figura 26.9**).

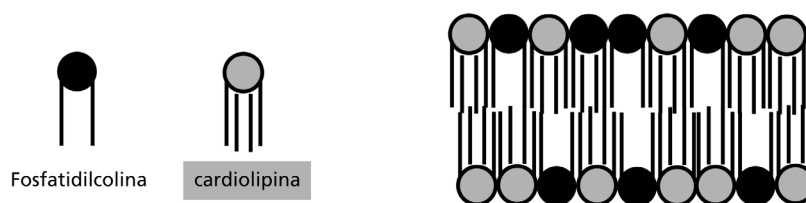


Figura 26.9: Esquema comparativo dos fosfolipídeos fosfatidilcolina, cardiolipina (verde) e uma bicamada lipídica semelhante à membrana mitocondrial interna.

Quando se faz uma extração bioquímica que separa os lipídeos e as proteínas da membrana mitocondrial interna e depois se seca e pesa o conteúdo, constata-se que essa membrana tem muito mais proteínas do que lipídeos. É a maior relação proteína/lipídeo da célula (70/30). Não é difícil imaginar por que a membrana mitocondrial interna tem tantas proteínas:

- é nela que ocorre a **cadeia transportadora de elétrons**, e seus componentes são proteínas da membrana interna;
- é na membrana interna que está a enzima que sintetiza ATP, a **ATP sintase**, em grande número de cópias;

– se a bicamada lipídica da membrana interna é bastante impermeável e, no entanto, é preciso que muitas moléculas cheguem à matriz e de lá saiam atravessando essa membrana, ela tem de ter muitos **transportadores**, carreadores etc.

Matriz mitocondrial – o conteúdo da matriz mitocondrial é tão concentrado que não se espalha logo que a membrana mitocondrial interna é rompida, como representado na **Figura 26.7**. A matriz é como um colóide que vai se dispersando devagar. Como está isolada por uma membrana bastante impermeável, a matriz mitocondrial tem composição iônica muito particular. Seu pH, por exemplo, é bem maior que o do citoplasma, cerca de 8, porque a cadeia respiratória bombeia prótons para fora da mitocôndria, alcalinizando a organela (mas sem acidificar o citoplasma, já que o volume deste é muito maior).

O estado físico coloidal da matriz é resultado de uma grande concentração de macromoléculas, em que se destacam:

a) proteínas solúveis:

- as enzimas do **ciclo de Krebs**;
- as enzimas que fazem a **β -oxidação** dos ácidos graxos;
- a **piruvato desidrogenase**, complexo enzimático muito grande e abundante que é essencial para o funcionamento do ciclo de Krebs a partir de glicose (e que vamos ver na próxima aula);

b) ácidos nucléicos:

- DNA;
- RNAs: ribossomais (rRNA), transportador (tRNA), e o equivalente ao mensageiro (mRNA).

Na próxima aula, vamos abordar o metabolismo mitocondrial, com as proteínas e enzimas que dele participam, do ponto de vista celular. Por ora, vamos nos deter nos ácidos nucléicos encontrados na matriz mitocondrial.

O GENOMA DAS MITOCÔNDRIAS E CLOROPLASTOS

A descoberta de que mitocôndrias e cloroplastos (Aulas 28 e 29) possuem ácidos nucléicos (DNA e RNA) despertou enorme curiosidade entre os pesquisadores. Procuramos incluir nesta aula algumas das conclusões dessas pesquisas, que tiveram enorme influência na elaboração das teorias sobre a evolução da vida em nosso planeta.

De novo, os protozoários!

Por alguma razão, nos tripanosomatídeos, os círculos de DNA estão presos uns aos outros como os elos de uma corrente. Por isso, formam um aglomerado eletrondenso na região da mitocôndria que fica próxima à base do flagelo (Figura 26.10b). Devido a essa proximidade, pensava-se que era uma estrutura ligada ao batimento flagelar e deu-se a ela o nome de cinetoplasto (que significa *corpúsculo do movimento*). Nesses protozoários, os genes contidos no cinetoplasto parecem ter relação com a infectividade do parasito e são muito estudados.

Diferentemente do DNA nuclear, nas mitocôndrias e nos cloroplastos essas moléculas são circulares (Figura 26.10a) e não possuem histonas, como o DNA de procariotos. Em cada organela, estão presentes várias moléculas de DNA iguais que geralmente estão associadas em pequenos grupos espalhados pela matriz mitocondrial (e pelo estroma dos cloroplastos).

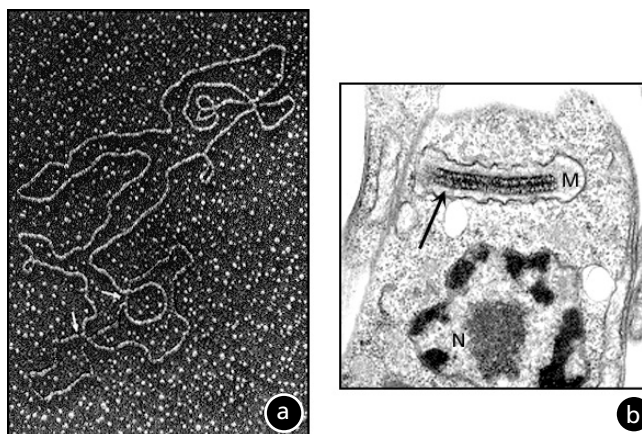


Figura 26.10: Micrografias de um círculo de DNA mitocondrial isolado (a) e do cinetoplasto (seta em b) do *Trypanosoma cruzi*, formado por vários círculos associados; M, mitocôndria; N, núcleo. Foto a, de David Clayton; foto b, de Isabel Porto Carreiro.

As muitas moléculas de DNA de uma mitocôndria são produzidas por replicação. No entanto, a replicação do DNA de mitocôndrias e cloroplastos não está regulada pelos mesmos mecanismos que a replicação do DNA nuclear. Além de replicadas, as moléculas de DNA de mitocôndrias e cloroplastos também são transcritas por enzimas próprias das organelas, produzindo RNAs que, por sua vez, são traduzidos por ribossomos também nas próprias organelas.

Os ribossomos de mitocôndrias e cloroplastos são diferentes dos ribossomos citoplasmáticos. Especialmente os dos cloroplastos são semelhantes aos ribossomos de bactérias e conseguem até mesmo funcionar em conjunto com enzimas ou tRNA de bactérias. Quando a síntese de proteínas em mitocôndrias e cloroplastos começa, o primeiro aminoácido da cadeia é sempre formil-metionina, como nos procariotos, enquanto nos eucariotos o primeiro aminoácido é sempre metionina. Apesar dessas diferenças e do descompasso na replicação, a tradução nas mitocôndrias tem de ser bastante coordenada com a que ocorre no citoplasma, já que a grande maioria das proteínas das mitocôndrias está codificada no núcleo. Os poucos genes presentes na organela codificam

para subunidades de enzimas mitocondriais que dependem da chegada, vindas do citoplasma, de outras subunidades da mesma proteína para poder montar a enzima funcional.

Nem tudo é igual!

Além das muitas semelhanças com os ácidos nucleicos e as enzimas de procariotos, existem diferenças marcantes também. Talvez a maior delas esteja no código genético. No código nuclear de todas as espécies, o significado de alguns **CÓDONS** é bastante conservado.

No genoma mitocondrial de animais e fungos, o código universal para fim de leitura (*stop codon*), por exemplo, não tem esse significado, codificando para o aminoácido triptofano. Já no genoma das mitocôndrias de plantas, o significado também é parada de leitura.

O RNA das mitocôndrias e cloroplastos é mais permissivo no pareamento com os códons. Enquanto nos eucariotos e procariotos cada códon tem um significado, nas organelas a terceira base pode variar, sem mudar o significado. Isso permite usar menos tRNA diferentes (são 22 nas mitocôndrias e 30 no citoplasma). Por isso, os biólogos moleculares dizem que o código genético das mitocôndrias é mais *relaxado*, no sentido de menos exigente.

O genoma de mitocôndrias e cloroplastos pode ter tamanhos muito diferentes, sendo o dos cloroplastos geralmente maior. Numa mesma planta, o genoma da mitocôndria pode ter cerca de 200 mil pares de bases, enquanto o do cloroplasto tem 250 milhões de pares de bases.

Os menores genomas de organelas são os das mitocôndrias de animais, que têm entre 16 e 19 mil pares de bases. O genoma da mitocôndria humana, por exemplo, é bem pequeno e já foi completamente seqüenciado.

CÓDON

Conjunto de três bases nitrogenadas, codificando um aminoácido, o início ou o fim da leitura.

O genoma mitocondrial humano

O seqüenciamento completo do genoma mitocondrial humano mostrou que ele é formado por dois genes que codificam para RNA ribossomal, 22 genes que codificam para RNA transportador e 13 genes que codificam para proteínas. Sua característica mais marcante (comum a vários genomas mitocondriais) é que todos os 16.569 nucleotídeos presentes fazem parte de algum gene, ou seja, não há regiões não codificantes nem espaço para regiões reguladoras. Ao mesmo tempo, apresenta alta taxa de substituição de nucleotídeos, cerca de 10 vezes maior que a taxa nuclear. Por isso, a comparação de seqüências mitocondriais humanas tem sido muito útil no estudo da migração de populações.

O seqüenciamento do genoma mitocondrial teve grande impulso depois da guerra do Vietnã porque, pressionado pelas famílias dos soldados mortos que não aceitavam os túmulos do "soldado desconhecido", o exército americano financiou e executou um grande trabalho de análise do DNA mitocondrial dos soldados mortos. A razão do interesse é que o DNA mitocondrial é o mais adequado para a identificação de cadáveres muito destruídos. Por ser menor, está menos sujeito a quebras; por ser circular, é mais fácil saber se a molécula está completa; por estar presente em mais de mil cópias por célula, é mais fácil de ser encontrado; por ser herdado apenas da mãe, as comparações para identificação são mais fáceis. Depois da metodologia estabelecida, o DNA mitocondrial já foi usado para identificação de cadáveres muito antigos ou destruídos (como os restos mortais da família do último czar russo) e vem sendo freqüentemente usado em genética forense (como, por exemplo, na busca dos netos por avós argentinos, cujos filhos "desapareceram" durante a ditadura).

Não apenas os ácidos nucléicos de mitocôndrias e cloroplastos se parecem com os de procariotos, mas também as próprias enzimas que trabalham na transcrição e na tradução dentro da organela têm características em comum com as enzimas dos procariotos, sendo inibidas pelas mesmas drogas (**Figura 26.11**). Surpreendentemente, essas enzimas são elas próprias completamente codificadas por genes do núcleo e traduzidas no citoplasma.

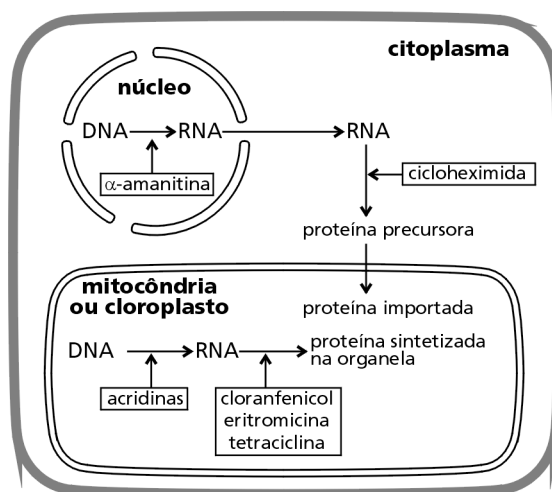


Figura 26.11: As drogas que inibem a transcrição no núcleo (α -amanitina) e a tradução e citoplasma (ciclo-heximida) de uma célula são diferentes das que inibem transcrição (acridinas) e tradução (cloranfenicol, tetraciclina e eritromicina) em mitocôndrias ou cloroplastos na mesma célula.

Talvez você tenha reconhecido algumas drogas na **Figura 26.11**, já que as drogas que inibem tradução nas mitocôndrias e cloroplastos são as mesmas que inibem a tradução em bactérias e por isso são usadas como antibióticos. Mas você não precisa achar que vai exterminar suas mitocôndrias tomando esses antibióticos, porque eles se concentrarão nas bactérias que têm uma taxa de tradução muito mais acelerada que as mitocôndrias.

IMPORTAÇÃO DE PROTEÍNAS MITOCONDRIAIS

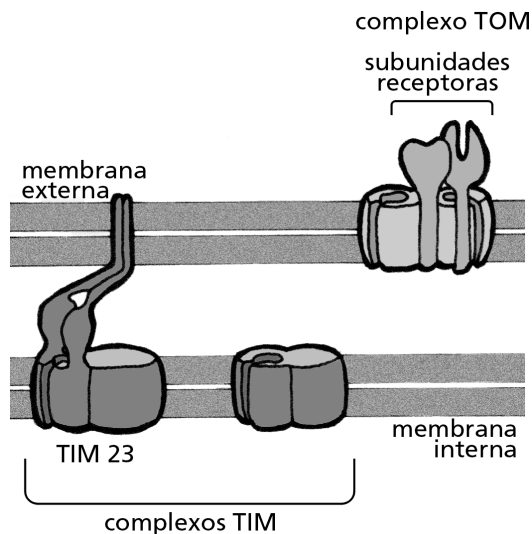
Como você viu, a maioria das proteínas presentes em mitocôndrias e cloroplastos está codificada no genoma nuclear e é sintetizada no citoplasma. Como vão parar dentro das organelas?

Para entrar em mitocôndrias e em cloroplastos, as proteínas precisam ter seqüências sinal que serão reconhecidas por receptores na membrana externa das organelas. Isso lembra a entrada de proteínas no retículo endoplasmático, não lembra?

Uma diferença muito marcante entre a entrada de uma proteína no retículo e na mitocôndria é que uma proteína só entra na mitocôndria depois que foi completamente sintetizada, ou seja, a importação de proteínas pela mitocôndria é **pós-traducional**. No entanto, assim como no retículo, a proteína precisa estar desenovelada para passar pelos translocadores mitocondriais. Por isso, uma proteína mitocondrial, mesmo depois de completamente sintetizada, continua ligada a várias chaperonas, que impedem o enovelamento precoce ou a agregação de várias proteínas (reveja esse conceito na Aula 18). As chaperonas só vão se soltar da proteína depois que ela for reconhecida pelos translocadores mitocondriais.

Existem dois grupos de translocadores, os complexos **TOM** (*Trans Outer Membrane*, translocase de membrana externa) e **TIM** (*Trans Inner Membrane*, translocase de membrana interna) (**Figura 26.12**). Eles podem funcionar separadamente, só o TOM para proteínas de membrana externa e do espaço intermembranar e, TOM e TIM para proteínas de membrana interna e proteínas da matriz.

Figura 26.12: Os complexos de importação mitocondriais translocase da membrana externa (TOM) e translocases de membrana interna (TIM).



Vamos imaginar uma proteína de matriz mitocondrial. Ela é sintetizada no citoplasma, mantida desenovelada por chaperonas até que sua sequência de sinal seja reconhecida por uma TOM (Figura 26.13).

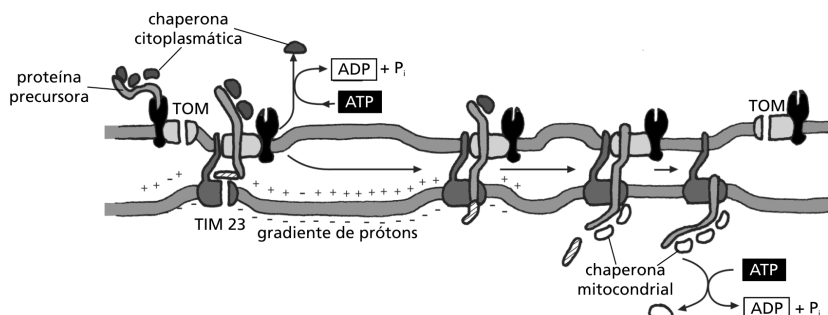


Figura 26.13: Importação de uma proteína da matriz mitocondrial.

Uma vez reconhecidas, as chaperonas se soltam e a hidrólise de ATP por essas chaperonas contribui para que a TOM transporte a proteína para dentro. Logo que sua sequência-sinal aparecer no espaço intermembranar, uma TIM vai reconhecê-la e translocá-la para a matriz com a ajuda da energia do gradiente de prótons da cadeia respiratória (Figura 26.13). Ao chegar à matriz, sua sequência-sinal é cortada, e a conformação funcional é adquirida com a ajuda das chaperonas mitocondriais.

Com certeza, esse mecanismo seria mais eficiente se a passagem pelas duas membranas fosse consecutiva. Essa idéia é confirmada pela existência de **sítios de contato** entre a duas membranas da mitocôndria, observada em algumas preparações especiais de microscopia eletrônica (Figura 26.14), e pela descoberta de que uma das TIM (a TIM 23) é uma proteína das duas membranas.

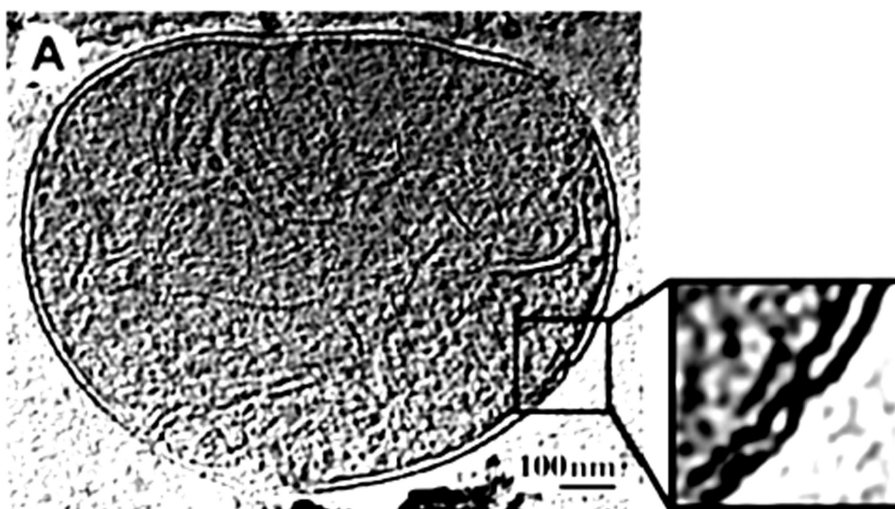


Figura 26.14: Observando ao microscópio eletrônico de alta voltagem um corte espesso de mitocôndrias do fungo *Neurospora crassa* preservadas por congelamento, é possível observar que as membranas externa e interna mantêm distância aproximadamente constante, exceto nos pontos de contato (no detalhe), que se acredita sejam os locais de importação de proteínas para a matriz mitocondrial. Foto de Daniela Nicastro (J. Struct. Biol. 129:48, 2000).

ORIGEM SIMBIÓTICA DE MITOCÔNDRIAS E CLOROPLASTOS

Agora que você já conhece melhor as características de mitocôndrias e cloroplastos, podemos voltar à discussão sobre a origem dessas organelas.

As mitocôndrias teriam se originado a partir da fagocitose de procariotos aeróbicos por eucariotos que não os destruíram e passaram a usufruir de grandes vantagens numa época em que o teor de oxigênio da atmosfera terrestre estava aumentando. Os novos eucariotos desenvolveram, então, uma relação de simbiose com os procariotos que fagocitaram e passaram a predominar porque podiam obter muito mais energia a partir dos substratos disponíveis. A aquisição das mitocôndrias também liberou a membrana plasmática das tarefas de produção de energia, possibilitando outras especializações que contribuíram muito para o aumento da complexidade dos eucariotos.

Mas será que essa hipótese é verdadeira? Ainda não foi possível testá-la diretamente, já que ainda não se conseguiu “cultivar” mitocôndrias e depois oferecê-las a um eucarioto sem mitocôndrias, como uma ameba, na tentativa de refazer o evento simbiótico. O estudo de outras

relações simbióticas, entre protozoários e bactérias, tem contribuído bastante para o entendimento do processo. Algumas características argumentam fortemente a favor da origem procariótica das mitocôndrias:

1) A presença de porinas na membrana mitocondrial externa – pela hipótese da origem simbiótica, a membrana externa da mitocôndria corresponderia à membrana do vacúolo fagocítico, portanto, a presença de uma proteína típica de procariotos nessa membrana parece contraditória. No entanto, o estudo detalhado da membrana do vacúolo que envolve parasitos, como *Trypanosoma*, *Toxoplasma* etc. mostrou que é comum a inserção de proteínas do parasito na membrana do vacúolo.

2) A presença de cardiolipina, fosfolípídeo típico de procariotos, formado na própria mitocôndria a partir de duas fosfatidilcolinas.

3) A presença de DNA circular em múltiplas cópias, sem histonas.

4) A presença de RNA transportador semelhante ao de procariotos.

5) A presença de ribossomos semelhantes aos de procariotos.

6) A síntese de proteínas começando sempre por formil-metionina.

A tentativa de considerar a hipótese verdadeira é grande, não? Mas ainda é preciso explicar algumas divergências, como as diferenças no código genético, que não é semelhante ao de eucariotos, mas também não é semelhante ao de procariotos.

Mitocôndrias sempre se originam de outras mitocôndrias, que aumentaram de tamanho e depois sofreram fissão. Apesar de possuírem o próprio DNA e ainda manterem os processos de replicação, transcrição e tradução, poucas proteínas e RNAs estão codificadas pelo genoma da própria organela, tornando-as dependentes do genoma nuclear e dos mecanismos de síntese e transporte citoplasmáticos. Durante a evolução, a relação simbiótica aprofundou-se, envolvendo a transferência de genes do simbiote para o núcleo do eucarioto hospedeiro. Essa transferência foi lenta, durante milhões de anos, porque, além de serem transferidos para o núcleo, os genes precisam se adaptar aos mecanismos de replicação e controle de expressão gênica dos eucariotos, incorporando-se ao genoma de maneira estável e produzindo mRNA capaz de ser lido e de conter em si mesmo o sinal de direcionamento para mitocôndria. Assim, as mitocôndrias se tornaram totalmente dependentes do hospedeiro, deixando de ser um simbiote para se tornar uma organela. Como o processo de transferência gênica é unidirecional, são considerados mais evoluídos os genomas mitocondriais menores, que já transferiram mais genes, como o genoma mitocondrial humano.

De que procarioto as mitocôndrias e os cloroplastos descendem?

Certamente, a relação simbiótica entre eucariotos e mitocôndrias é mais antiga e data de um período anterior à separação entre animais e plantas. Acredita-se que o evento endocítico que incorporou as mitocôndrias aos eucariotos data de cerca de $1,5 \times 10^9$ anos, quando os níveis de oxigênio na atmosfera aumentaram. Comparando as seqüências gênicas, as mitocôndrias parecem ter se originado de bactérias púrpura; e os cloroplastos, muitos anos depois, com animais e vegetais já separados evolutivamente, de bactérias fotossintéticas (**Figura 26.15**).

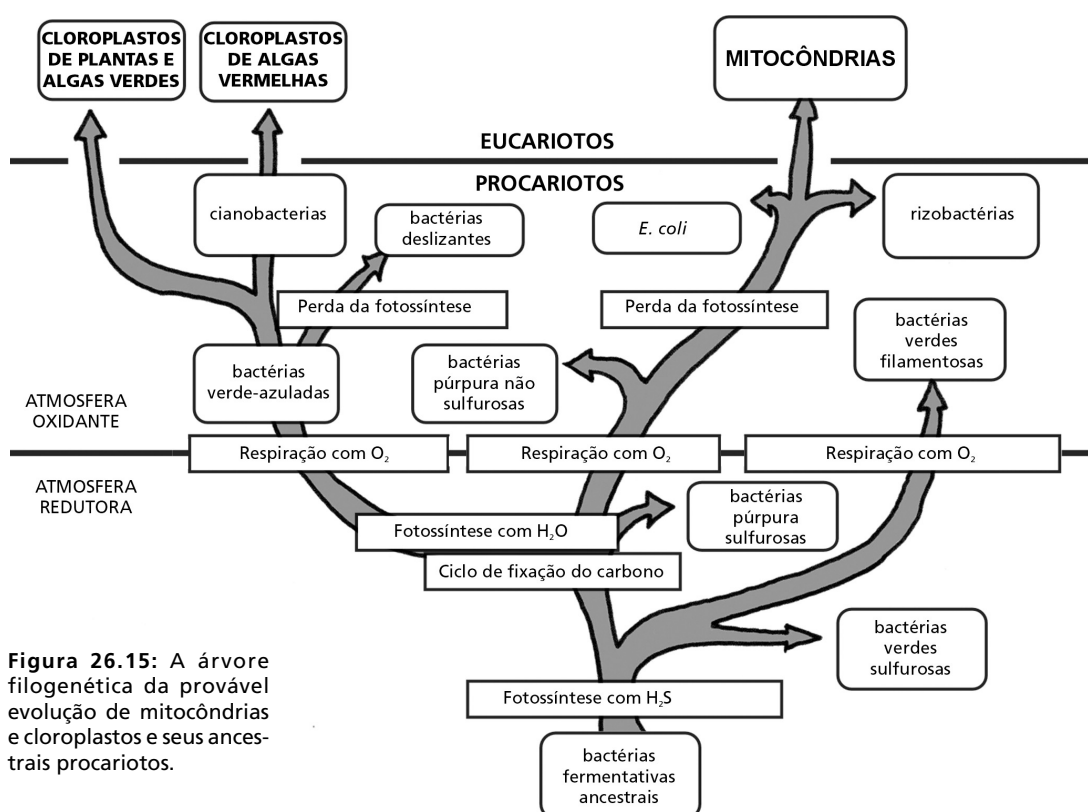


Figura 26.15: A árvore filogenética da provável evolução de mitocôndrias e cloroplastos e seus ancestrais procariotos.

EXERCÍCIOS

1. As mitocôndrias de todos os tipos celulares são morfologicamente iguais?
2. Como se organiza estruturalmente a mitocôndria?
3. Quais as principais características da membrana mitocondrial externa?
4. Quais as principais características da membrana mitocondrial interna?
5. Quais as principais características do espaço intermembranas?
6. Quais as principais características da matriz mitocondrial?
7. Por que as mitocôndrias representaram um grande salto evolutivo para os seres eucariontes?
8. Como se distribuem as mitocôndrias em uma célula?
9. Como é feita a importação de proteínas mitocondriais cujos genes se encontram no núcleo?
10. Por que se acredita que as mitocôndrias resultam de uma relação simbiótica entre uma bactéria e uma célula eucarionte primitiva que a fagocitou?

Mitocôndria II

AULA

27

objetivo

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Associar a estrutura e composição das membranas e compartimentos mitocondriais ao seu funcionamento.

Pré-requisitos

Todo o conteúdo de Bioquímica I.

Compartimentos endocíticos.

Características de fluidez e permeabilidade das membranas biológicas.

INTRODUÇÃO

Agora que você já conhece melhor a ultra-estrutura das mitocôndrias, vamos rever um pouco do seu funcionamento, que você já estudou em Bioquímica, para que melhor possamos correlacionar estrutura e função.

A principal função das mitocôndrias é produzir ATP, e elas fazem isso com o melhor rendimento possível. Para isso, precisam obter a energia necessária para fazer a ligação ADP + Pi, que é muito grande.

O mecanismo que deu certo evolutivamente e está presente, em sua essência, em todos os eucariotos aeróbicos é o da obtenção dessa energia em etapas. Em cada uma, a energia obtida é armazenada em compostos temporários, como NADH.H⁺ e FADH₂, ou em gradientes de concentração, até que possa atingir os níveis energéticos necessários para fazer a ligação.

O que vamos estudar nesta aula é o aspecto geral dessas etapas, sem detalhar reações químicas nem nomes de moléculas, a não ser as inevitáveis, porque isso é um assunto que você está aprendendo em Bioquímica. Em contrapartida, preocupa-nos mostrar em que locais as reações ocorrem e o quanto elas são dependentes do arranjo estrutural desses locais.

DE ONDE VEM A ENERGIA? OS COMBUSTÍVEIS CELULARES

Para conseguir fazer a ligação ADP + Pi, a célula precisa quebrar outras ligações químicas. Várias ligações carbono-carbono são quebradas até conseguir a energia para formar ATP. As ligações carbono-carbono estão presentes em abundância nos compostos orgânicos e, assim, uma célula pode “escolher” as ligações que vai quebrar. Claro que ela preserva sua própria estrutura, do mesmo modo que ninguém escolheria obter calor numa lareira queimando as próprias cadeiras da sala, a não ser que não houvesse alternativa. Numa célula, é mais ou menos assim: ela só quebra suas proteínas, lipídeos e açúcares estruturais se não houver alternativa.

O combustível preferencial é a glicose, que fica armazenada no próprio citoplasma das células. Para armazenamento, as moléculas de glicose formam polímeros: o amido, no caso das células vegetais, e o glicogênio, nas células animais, fungos e alguns protozoários.

O glicogênio é um polímero organizadíssimo, no qual as moléculas de glicose ficam empacotadas junto com as enzimas que vão quebrar o polímero quando for necessário (**Figura 27.1**).

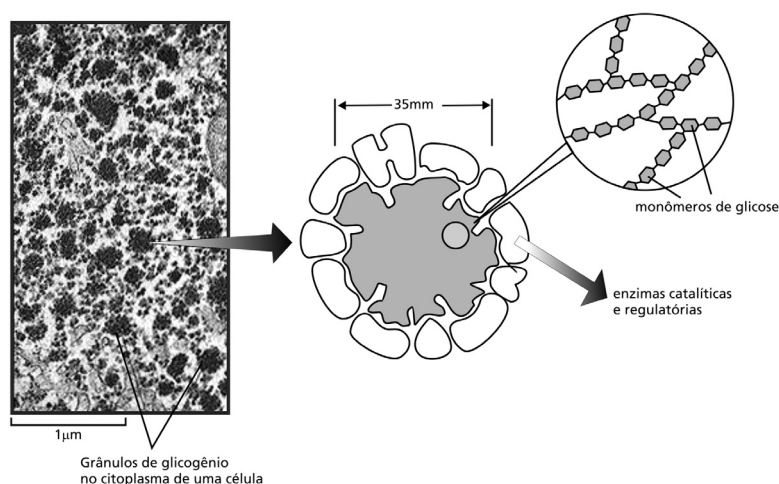


Figura 27.1: Micrografia e esquema de um grânulo de glicogênio, que tem o polímero de glicose no meio e enzimas na periferia.

Algumas células têm maior capacidade de armazenar glicogênio; entre elas, destacam-se os hepatócitos. Mas o glicogênio armazenado não é a única fonte de glicose. Aliás, a célula só começa a quebrar o polímero se não houver glicose disponível na circulação sanguínea, vinda diretamente da alimentação. Se houver, o metabolismo celular usa preferencialmente a glicose livre que entrou por transporte passivo do tipo uniporte ou difusão facilitada pelo simporte com Na^+ (veja Aula 10). Quando a célula absorve mais glicose do que ela precisa naquele momento, o excedente é incorporado no polímero de glicogênio. Mas isso tem limite! Se um animal ingere glicose demais (só o homem faz isso!), ela será convertida em gordura pelo metabolismo do fígado. Infelizmente, o contrário não é verdade, o metabolismo animal não consegue converter gordura em quantidades significativas de glicose (a gliconeogênese a partir de gorduras é uma habilidade especial das sementes).

Se a glicose circulante atingir níveis muito baixos, um hormônio – o **glucagon** – se encarrega de mobilizar outro substrato energético: as gorduras armazenadas. Só que esse *estoque energético* não está em cada célula, e sim em células especiais de armazenamento, os **adipócitos**. Os adipócitos são células do tecido conjuntivo dotadas de algumas características especiais: possuem receptores específicos para reconhecer os hormônios que indicam quando armazenar e quando disponibilizar as gorduras e um citoesqueleto adequado para acomodar grandes depósitos de gordura: filamentos intermediários constituídos por vimentina que formam uma espécie de *gaiola* que impede que as gotículas de gordura

fiquem se chocando com as organelas, pressionando-as (**Figura 27.2**). Quando o adipócito está muito cheio de gordura, seu núcleo fica deslocado para a periferia da célula.

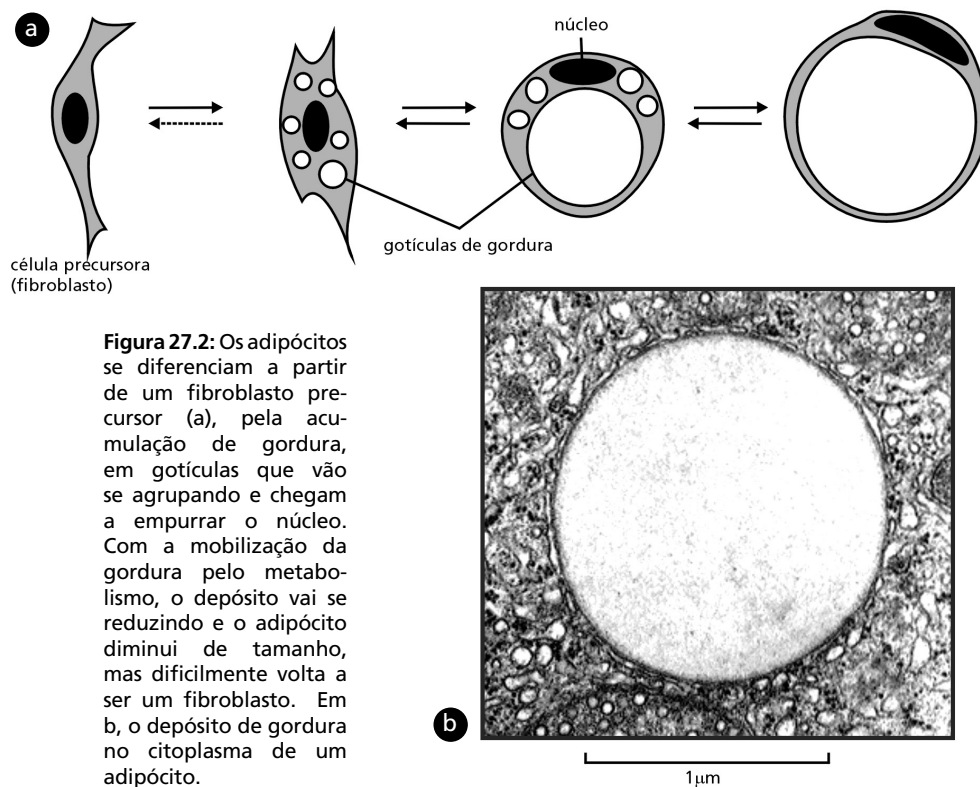


Figura 27.2: Os adipócitos se diferenciam a partir de um fibroblasto precursor (a), pela acumulação de gordura, em gotículas que vão se agrupando e chegam a empurrar o núcleo. Com a mobilização da gordura pelo metabolismo, o depósito vai se reduzindo e o adipócito diminui de tamanho, mas dificilmente volta a ser um fibroblasto. Em b, o depósito de gordura no citoplasma de um adipócito.

Quando estimulado pelo hormônio glucagon, o adipócito coloca em circulação partículas de **lipoproteína de baixa densidade (LDL)**. As LDL (formadas por uma proteína associada a triglicerídeos, colesterol e fosfolípidos) transportam moléculas hidrofóbicas pela corrente sanguínea de maneira adequada (veja a **Figura 20.5**). Uma vez na corrente sanguínea, as partículas de LDL serão distribuídas para todas as células, que poderão endocitá-las com a ajuda do receptor de LDL, como vimos na Aula 20. Depois de percorrer a via endocítica e chegar aos lisossomos, as partículas serão digeridas e as moléculas formadoras serão transportadas para o citoplasma, estando, assim, disponíveis para serem usadas em reações de síntese de outras moléculas que a célula precisar ou no metabolismo energético. Algumas células têm seus próprios depósitos de gordura. O exemplo mais notório é o do músculo cardíaco, já comentado na aula passada, que depende do ATP produzido pelas mitocôndrias, que mantêm o estoque do substrato mais energético à disposição, bem pertinho das mitocôndrias e das fibras musculares.

Nem todas as células têm receptores para LDL! As exceções mais importantes são os neurônios do sistema nervoso central. Eles só conseguem produzir ATP a partir de glicose. Por isso, o organismo animal não esgota todos os depósitos de glicogênio que possui. As células do fígado conseguem obter glicose a partir de seus depósitos de glicogênio e bombear para a corrente sanguínea ao invés de usá-la em seu citoplasma, de modo que os neurônios possam obtê-la. Essa atividade é estimulada pelo glucagon, o mesmo hormônio que mobiliza os depósitos de gordura dos adipócitos, para sustentar o metabolismo energético das outras células que não os neurônios. Ah! Esse mesmo hormônio produz a sensação de fome, fazendo-nos começar a procurar novas fontes de glicose para refazer os estoques.

É por isso que depois de algum tempo fazendo exercício intenso, em jejum, ficamos com tonteira e com a visão escurecida. Este é um estado de hipoglicemia, que independe da mobilização dos estoques de gordura e só será revertido pela ingestão de glicose.

ACÚCARES OU GORDURAS? QUAL O MELHOR COMBUSTÍVEL?

Qual substrato escolher? Assim como o motor a álcool e o motor a gasolina têm cada um suas vantagens, as cadeias de ácido graxo dos triglicerídeos têm muito mais ligações de carbono para quebrar do que a glicose, (o que resulta em mais energia), mas estão longe (nos adipócitos) e dá um trabalhão consegui-las. A melhor opção então é quebrar os polímeros de glicogênio, que estão ali mesmo no citoplasma. Nosso estoque de polímeros de glicose dura aproximadamente 12 horas de atividade normal; em contrapartida, o estoque de gordura dos adipócitos de um adulto normal dura cerca de um mês. Não é possível mudar essa relação porque os polímeros de glicose ocupam muito mais espaço e são muito mais densos do que os depósitos de gordura. Se tivesse que estocar substratos energéticos suficientes para um mês acumulando apenas glicose, um homem normal pesaria cerca de 30 quilos a mais.

Portanto, embora a quebra de moléculas de ácido graxo seja mais *rentável*, porque essas moléculas têm mais ligações carbono-carbono, as moléculas de glicose são mais fáceis de obter.

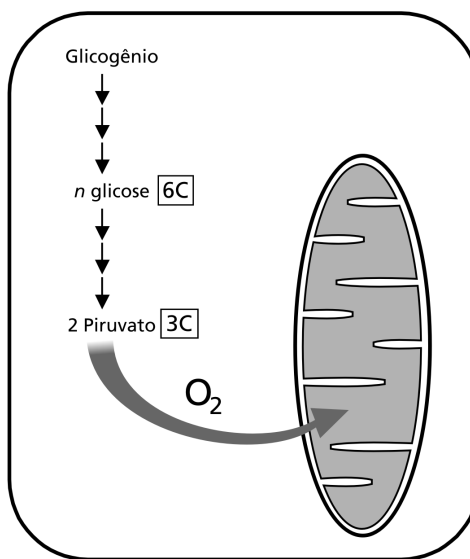
GLICOSE COMO SUBSTRATO

Os polímeros de glicogênio são quebrados no citoplasma por enzimas que estão associadas aos próprios grânulos (**Figura 27.1**), liberando moléculas de glicose.

Cada molécula de glicose é trabalhada separadamente, numa via metabólica também citoplasmática, a via glicolítica. Você já aprendeu em Bioquímica que essa via tem várias etapas, cada uma catalisada por uma enzima. Neste momento, interessa-nos o rendimento dessa via: uma

molécula de **glicose**, que tem **seis** carbonos, será quebrada em duas moléculas de **piruvato**, com **três** carbonos cada uma. Claro que essa quebra, além de outras “arrumações” da molécula, libera energia, que é usada para formar duas moléculas de ATP diretamente e reduzir dois NADs a NADH.H⁺. Na presença de oxigênio, o piruvato entra na mitocôndria (**Figura 27.3**).

Figura 27.3: No citoplasma, ocorre a quebra de glicogênio em n moléculas de glicose, e a via glicolítica quebra cada glicose em dois piruvatos, que entram na mitocôndria.

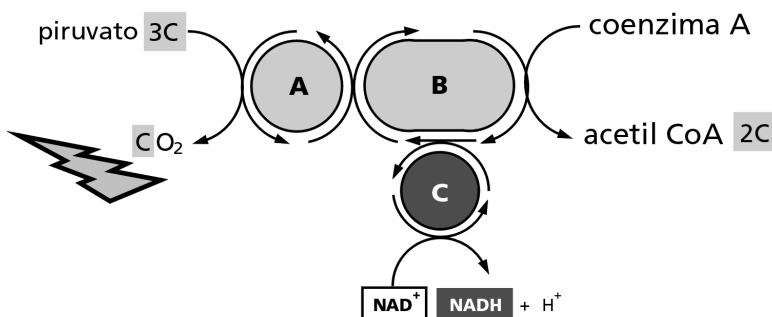


ENFIM, CHEGAMOS À MATRIZ MITOCONDRIAL!

É fácil para o piruvato passar a membrana mitocondrial externa, mas, por ser uma molécula carregada negativamente, para ultrapassar a interna ele precisa ser transportado ativamente. Mais adiante, vamos esclarecer como é feito esse transporte.

Uma vez na matriz mitocondrial, o piruvato é logo quebrado pela **piruvato desidrogenase**. Essa enzima é, na verdade, um grande complexo multienzimático. Ela separa os três carbonos do piruvato em uma molécula de dois carbonos e outra de um carbono só, aproveitando a energia liberada, evidentemente, para reduzir NAD a NADH.H⁺ (**Figura 27.4**).

Figura 27.4: A piruvato desidrogenase é um grande complexo zi-mático da matriz mitocondrial, formado por várias subunidades representadas aqui pelos complexos A, B e C. O complexo age sobre o piruvato, quebrando-o em acetil-CoA e CO₂, e reduzindo uma molécula de NAD.



No ambiente cheio de oxigênio, o carbono liberado logo se torna CO_2 , sendo excretado na respiração e incorporando-se à atmosfera. Os outros dois carbonos são acoplados à coenzima A, formando acetil-CoA, o ponto de entrada no ciclo de Krebs.

ÁCIDOS GRAXOS COMO SUBSTRATO

Já vimos que os ácidos graxos chegam à célula endocitados como moléculas de triglicerídeos dentro de partículas de LDL. Depois de digeridas nos lisossomos, as moléculas de triglicerídeos liberam as cadeias de ácido graxo que são transportadas para o citoplasma e chegam às mitocôndrias. Os ácidos graxos passam as membranas mitocondriais através de uma sequência de reações conhecida como Ciclo da Carnitina e chegam à matriz mitocondrial.

Na matriz mitocondrial, as cadeias de ácido graxo são metabolizadas por um conjunto de enzimas que ligam coenzima A e depois cortam a cadeia sempre depois do segundo carbono (**Figura 27.5**). Como o segundo carbono é chamado carbono β , esta via se chama β -oxidação dos ácidos graxos.

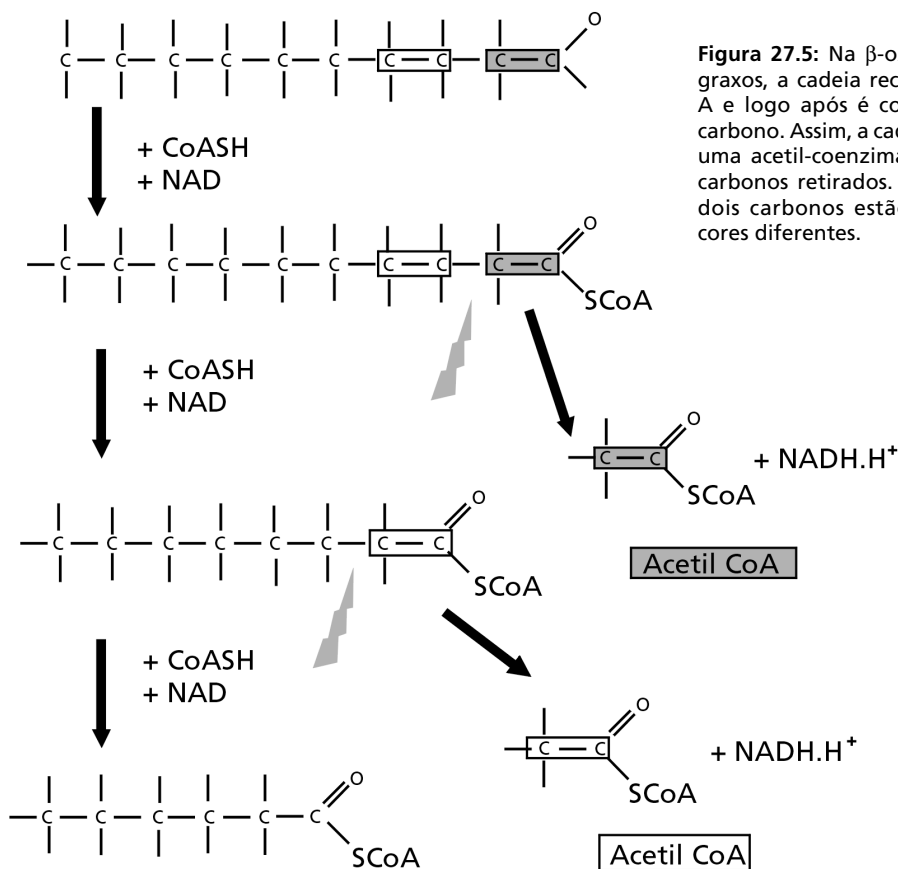


Figura 27.5: Na β -oxidação dos ácidos graxos, a cadeia recebe uma coenzima A e logo após é cortada no segundo carbono. Assim, a cadeia vai produzindo uma acetil-coenzima A para cada dois carbonos retirados. No esquema, cada dois carbonos estão sombreados por cores diferentes.

Você reparou que uma molécula de glicose vai render duas acetil CoA, enquanto um ácido graxo de 10 carbonos produz 5 acetil-CoA? E a maioria dos ácidos graxos tem entre 16 e 20 carbonos!

Reparou também que, se o metabolismo parasse aqui, teríamos acumulado vários NADH.H^+ , mas nenhum ATP teria sido formado? E para onde vão todas as acetil-CoA?

Corpos cetônicos

Quando gastamos muito ATP sem ingerir glicose e mobilizamos intensamente os depósitos de gorduras, a quantidade de acetil-CoA formada no fígado é enorme. Nesses casos, duas acetil CoA se condensam para formar acetoacetato, que é transportado pelo sangue para os tecidos. Se a mobilização de gorduras continuar por algum tempo, outros produtos podem se formar, como o hidroxibutirato e a acetona. Esses compostos são chamados corpos cetônicos e se distribuem por todos os líquidos corporais, desde o sangue e a urina até o suor e a saliva. São eles os responsáveis pelo cheiro de sabão que sentimos no suor depois de intenso exercício aeróbico em jejum. Como são tóxicos para o sistema nervoso central, seus efeitos se somam ao da falta de glicose, produzindo um desmaio (cuja causa pode ser prontamente identificada pelo cheiro de acetona no hálito) que coloca o indivíduo em repouso forçado até a chegada de mais glicose (às vezes no pronto-socorro!).

Se o objetivo do metabolismo mitocondrial é quebrar ligações para obter energia suficiente para ligar ADP e P_i , por que a ligação dos dois últimos carbonos, tanto do metabolismo de glicose quanto do metabolismo de ácido graxo, não foi desfeita? Em vez disso, recebeu uma coenzima A?

DEPOIS DE TANTAS PERGUNTAS, ALGUMAS CONSIDERAÇÕES

Imagine que a ligação entre os dois carbonos da acetil coenzima A tivesse sido desfeita. Resultariam carbonos que logo se transformariam em CO_2 e seriam perdidos para a atmosfera! Seria uma maneira rápida de perder **todos** os carbonos do substrato para a atmosfera, reduzindo, assim, o número de carbonos incorporados à matéria viva. Isso acarretaria uma redução da biomassa que teria sido evolutivamente muito prejudicial.

A ligação de coenzima A cumpre duas funções: impede que os dois últimos carbonos sejam separados, e perdidos, e faz com que eles sejam reconhecidos pela próxima etapa do metabolismo, também realizada por enzimas da matriz mitocondrial: o ciclo de Krebs ou ciclo do ácido cítrico.

CICLO DE KREBS

Como você já estudou o ciclo de Krebs em Bioquímica, vamos nos "dar ao luxo" de apenas apontar suas características gerais. A *utilidade* deste ciclo é incorporar a acetil-coenzima A com seus 2 carbonos a uma molécula de 4 carbonos, resultando numa molécula de seis carbonos (o ácido cítrico, que também dá nome ao ciclo). Desses seis carbonos, dois são retirados a cada volta do ciclo, transformando-se em CO_2 e indo para a atmosfera, mas não são os dois carbonos que vieram com a acetil coenzima A que permanecem incorporados por três voltas do ciclo. Esse tempo a mais de permanência dos carbonos na biomassa é o suficiente para que haja equilíbrio entre a quantidade de carbonos perdidos por todos os organismos aeróbicos e a quantidade de carbonos incorporados à biomassa pela fotossíntese dos seres autotróficos. Claro que o equilíbrio entre dois eventos tão independentes quanto a respiração e a fotossíntese sofre flutuações significativas, mas a longo prazo e de maneira global tem permitido o aumento da biomassa, que sustenta a vida no planeta.

Acompanhe na **Figura 27.6** o destino dos carbonos que vieram da acetil coenzima A e a engenhosa quebra da ligação dos últimos dois carbonos de modo a obter toda a energia contida nas moléculas de substrato.

Na **Figura 27.6**, os dois carbonos que vieram com a acetil-CoA estão marcados. Depois de se juntarem aos outros quatro carbonos e de um pequeno ajuste na molécula, o primeiro carbono é retirado e transformado em CO_2 . A energia liberada é usada para reduzir NAD a NADH.H^+ , sobrando 5 carbonos na molécula. Em seguida, mais um carbono é retirado, produzindo mais NADH.H^+ . A molécula que sobra tem 4 carbonos, mas não é igual àquela capaz de se ligar à acetil-CoA. Por isso, a segunda metade do ciclo é dedicada aos ajustes necessários para reconstituir a molécula original. Nesses ajustes, mais uma molécula de NADH.H^+ e uma de FADH_2 são produzidas, além do único GTP diretamente formado. Terminados os ajustes, temos de novo a molécula de quatro carbonos capaz de ligar nova acetil-CoA, mas repare que ela contém os dois carbonos trazidos pela acetil-CoA da volta anterior do ciclo.

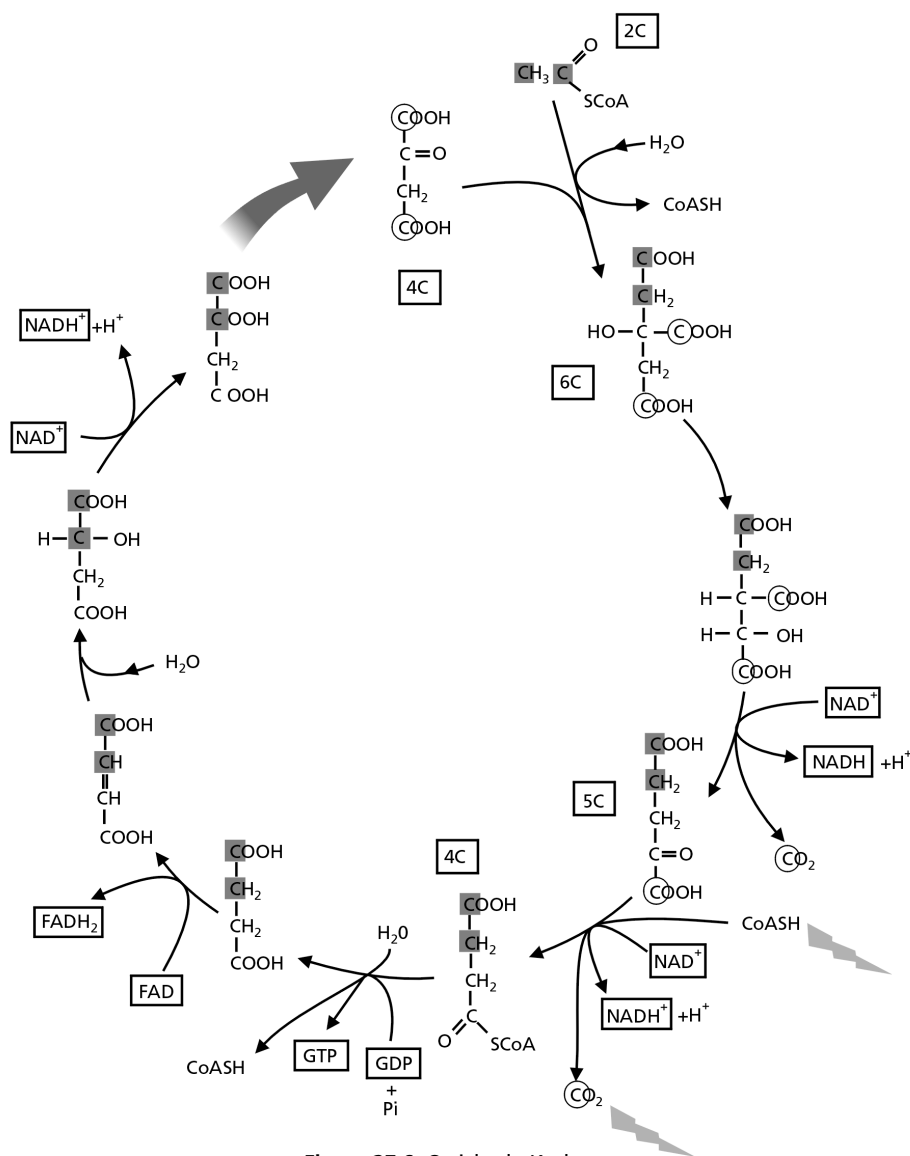


Figura 27.6: O ciclo de Krebs.

CADÊ O ATP? ATÉ AGORA, "NAD"!

Muito bem, todas as ligações carbono-carbono do substrato foram quebradas, produzindo muitas acetil-CoA, que giraram o ciclo de Krebs muitas vezes, mas ATP, que é bom, até agora, nada!

A energia liberada pela quebra das ligações foi temporariamente armazenada na reação de oxidorredução de NAD em NADH.H⁺. Esse armazenamento é realmente temporário; logo que se reduz, o NADH.H⁺ é alvo da enzima NADH desidrogenase, que o reoxida, roubando seus elétrons e passando-os adiante, iniciando, dessa forma, a **cadeia respiratória**.

CADEIA RESPIRATÓRIA OU CADEIA TRANSPORTADORA DE ELÉTRONS

A enzima **NADH desidrogenase** é a primeira de uma seqüência de proteínas da membrana mitocondrial interna, que têm a capacidade de atrair elétrons, porque possuem um átomo metálico ligado. Esse átomo pode ser ferro ou cobre, justamente os elementos capazes de assumir duas conformações estáveis, de valência 2^+ ou 3^+ . Cada uma das proteínas da cadeia respiratória tem o átomo metálico ligado de modo a ter maior ou menor afinidade por elétrons.

A **NADH desidrogenase** é o maior dos complexos protéicos que formam a cadeia respiratória. Na **Figura 27.7**, estão esquematizados esses complexos e suas atividades.

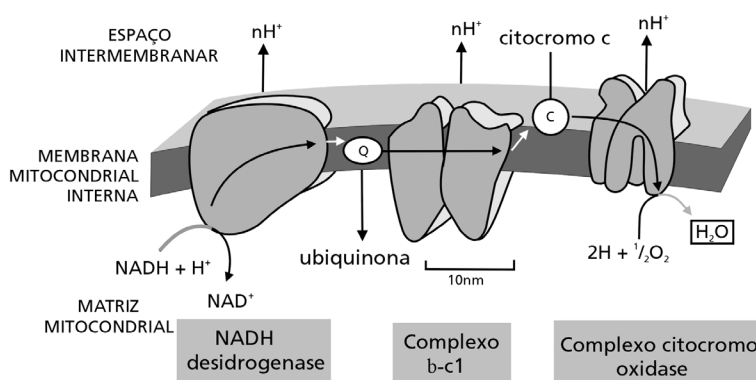


Figura 27.7: Cadeia transportadora de elétrons na membrana mitocondrial interna.

A cadeia respiratória também pode ser iniciada pela **FADH desidrogenase**, cujo substrato são as moléculas de **FADH₂** formadas no ciclo de Krebs.

A cadeia respiratória é formada por três complexos protéicos de grande porte: a **NADH desidrogenase**, o **complexo citocromo b-c1** e a **citocromo oxidase** ou **citocromo a-a3**. Entre os grandes complexos, há moléculas pequenas, a **ubiquinona** ou **coenzima Q** e o **citocromo c**.

Todos os componentes da cadeia respiratória são proteínas da membrana mitocondrial interna e **não estão** interligados fisicamente. Para que os elétrons passem de um componente da cadeia para outro, é preciso que eles *se choquem*, daí a enorme importância da fluidez da membrana mitocondrial interna. Os choques devem ser ordenados, de modo que o percurso dos elétrons seja da molécula de menor afinidade por elétrons até o oxigênio, passando por todos os componentes da cadeia. O que favorece o ordenamento é a alternância entre grandes complexos enzimáticos e proteínas pequenas, os grandes em menor número, os pequenos em grande quantidade. Assim, o ordenamento dos componentes da cadeia respiratória, apesar de importante, é um fenômeno probabilístico.

FORMANDO UM GRADIENTE DE PRÓTONS

A NADH desidrogenase, que retirou os elétrons do NADH.H^+ , perde esses elétrons ao se chocar com a coenzima Q, porque esta última tem mais afinidade por elétrons. Ter mais afinidade significa precisar de menos energia para prender os elétrons; a diferença de energia entre a ligação dos elétrons na NADH desidrogenase e na coenzima Q é usada pela própria NADH desidrogenase para bombear prótons para o espaço intermembranar através da membrana mitocondrial interna. A coenzima Q, por sua vez, só vai manter os elétrons até se chocar com o complexo b-c1, que os *rouba* por ter um pouco mais de afinidade.

Já o citocromo c tem muita afinidade por elétrons e consegue liberar uma boa quantidade de energia ao *roubá-los* do complexo b-c1; essa energia também é usada pelo complexo b-c1 para bombear prótons para o espaço intermembranar. As moléculas de citocromo c são muito móveis na membrana e logo se chocam com o último grande complexo, a citocromo oxidase, que rouba os elétrons, mas por pouco tempo, já que eles logo são transferidos ao oxigênio. A diferença de energia de ligação entre os elétrons e a citocromo oxidase e os elétrons e o oxigênio é usada pela enzima para bombear prótons para fora (olhe de novo a **Figura 27.7**, reparando no bombeamento de prótons através da membrana mitocondrial interna).

O transporte de elétrons ao longo da cadeia respiratória libera energia aos poucos, de modo que ela pode ser aproveitada para criar um **gradiente de prótons** através da membrana mitocondrial interna. Essa membrana é bastante impermeável, de modo que o gradiente não pode se desfazer por difusão. A única passagem possível para os prótons voltarem à matriz mitocondrial é um complexo protéico transmembrana muito abundante: a ATP sintetase. Essa enzima tem várias subunidades (**Figura 27.8**), formando uma porção transmembrana, dita F_0 , e uma porção que fica projetada para dentro da matriz mitocondrial, dita F_1 . Quando os prótons acumulados no espaço intermembranar passam por dentro do canal formado pela porção F_0 , as subunidades catalíticas que estão na porção F_1 são ativadas e promovem a ligação $\text{ADP} + \text{Pi}$, formando ATP (finalmente!).

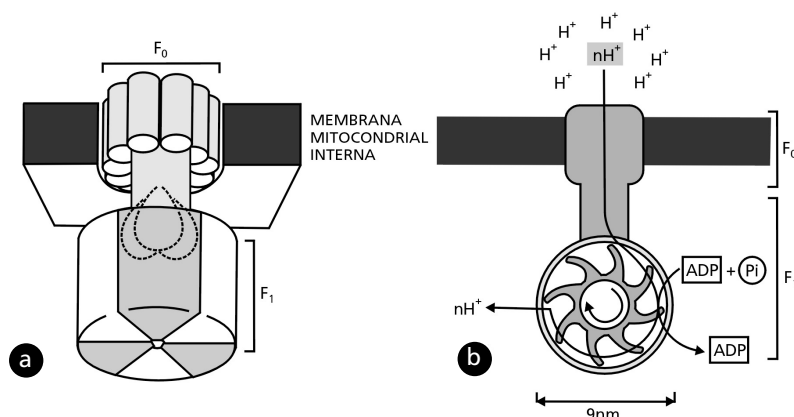


Figura 27.8: Esquema da ATP sintetase (a), com sua porção transmembrana F_0 e a porção F_1 se projetando na matriz mitocondrial. Em b, a enzima é comparada com uma turbina, onde a passagem dos prótons, como se fosse a passagem de água, faz girar a turbina, transmitindo a energia suficiente para formar ATP.

Claro que o ATP só se forma se os prótons voltarem à matriz mitocondrial por dentro da ATP sintase. É a impermeabilidade a prótons da membrana mitocondrial interna que garante isso. Se o gradiente de prótons pudesse se desfazer por outras passagens não acopladas à síntese de ATP, a energia acumulada se dispersaria, gerando calor.

"Desperdício" útil

Em algumas situações, esse aparente desperdício de energia pode ser interessante: os bebês de mamíferos nascem com o mecanismo de controle da temperatura corporal ainda imaturo e precisam garantir que certas regiões do corpo não sofram resfriamento. Nessas regiões, que são principalmente a base do crânio e a região do timo (localiza-se sobre o coração), existe um tecido adiposo especial que, de tão cheio de mitocôndrias, fica marrom (por serem ligadas a ferro ou cobre, as proteínas da cadeia respiratória são marrons). As mitocôndrias da gordura marrom são especiais porque elas têm uma proteína transmembrana na membrana mitocondrial interna, a **termogenina**, que funciona como um **IONÓFORO** de prótons, desfazendo o gradiente sem formar ATP e gerando o calor necessário. A própria atividade mitocondrial vai consumindo a gordura marrom, que acaba desaparecendo em poucos meses.

IONÓFORO

É uma molécula que se insere em membranas e passa a funcionar como um canal específico para certo íon e que está sempre aberto.

A **Figura 27.9** reúne no mesmo esquema a cadeia respiratória e a síntese de ATP, que são eventos acoplados.

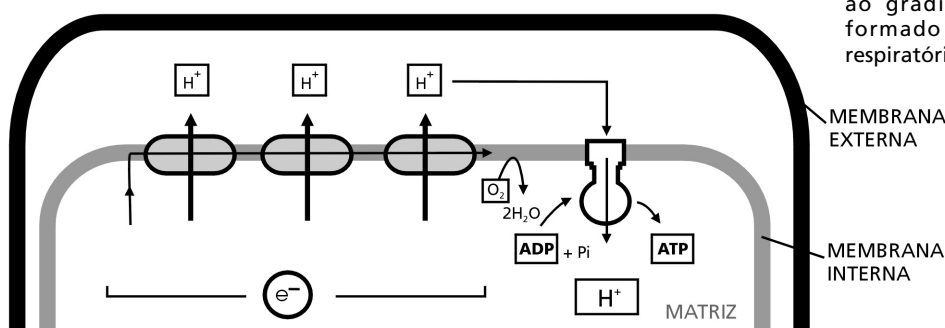


Figura 27.9: A síntese de ATP acontece graças ao gradiente de ATP formado pela cadeia respiratória.

ATP: DA MITOCÔNDRIA PARA A CÉLULA

Repare que o ATP foi formado dentro da mitocôndria. Como ele não atravessa a bicamada lipídica, ficaria, em princípio, aprisionado dentro da organela. Para sair, ele é trocado por ADP, num mecanismo que não apenas garante a disponibilização do ATP formado, como também serve de controle do metabolismo, já que o ATP só sai da mitocôndria se houver ADP para entrar; se há ADP para entrar, significa que ATP foi hidrolizado em algum lugar no resto da célula. Se não houver ADP, o ATP não sai e a ATP sintetase pára de funcionar por falta de substrato, isto é, de ADP. A proteína que faz a troca ATP por ADP é conhecida pela sigla **ANT** (*Adenine Nucleotide Transporter*, que também quer dizer formiga, em inglês) e é uma das mais importantes no metabolismo mitocondrial. Na **Figura 27.10**, estão esquematizados os mecanismos de entrada dos substratos mais importantes do metabolismo mitocondrial, todos sustentados pelo próprio gradiente de prótons: o ADP, apesar de menos negativo, entra trocado pelo ATP que sai, enquanto o fosfato e o piruvato, por serem ambos muito negativos, entram de carona com as cargas positivas quando o gradiente de prótons se desfaz.

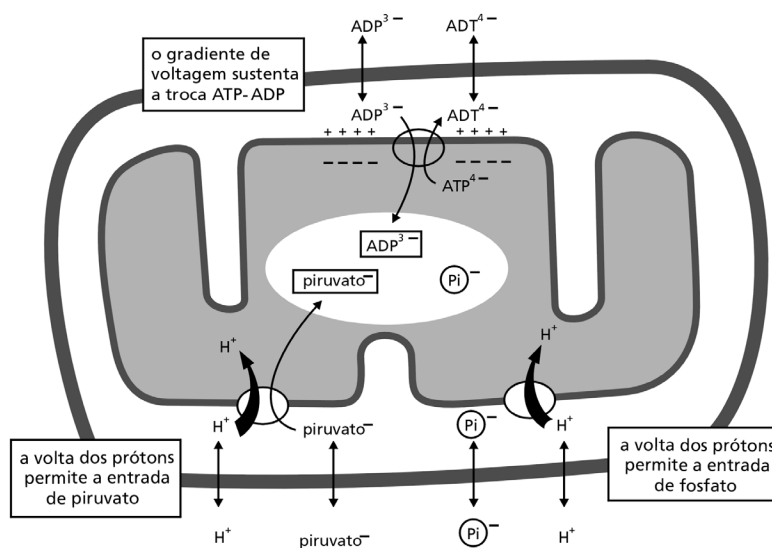


Figura 27.10: Mecanismos de troca sustentados pelo próprio gradiente de prótons permitem a entrada de substratos importantes.

Agora fica mais fácil entender por que o piruvato só entra na mitocôndria se houver oxigênio? Se não houver oxigênio, a cadeia respiratória não acontece, o gradiente de prótons não se forma e o piruvato não consegue entrar.

Radicais livres

Como vimos, as várias etapas do mecanismo de conversão da energia da ligação entre os carbonos do substrato em energia de ligação do fosfato no ATP são muito bem controladas. Mas nem sempre dá tudo certo com o metabolismo mitocondrial. Por exemplo, quando ocorrem choques entre os componentes da cadeia respiratória fora da ordem correta, pulando um ou mais elementos, a quantidade de energia liberada é grande demais para ser aproveitada, e parte dela se perde. O maior problema ocorre quando muitos elétrons são transferidos de uma vez aos átomos de oxigênio, formando peróxido de hidrogênio (água oxigenada) e o que chamamos espécies reativas de oxigênio, os famosos radicais livres. Os radicais livres são muito instáveis e difundem-se rapidamente, atravessando as membranas. Ao chocarem-se com outras moléculas, eles as oxidam, danificando-as. As células têm muitos mecanismos de defesa contra essas moléculas, especialmente as várias superóxido dismutases, peroxidases e catalases presentes na mitocôndria, no citoplasma, nos peroxissomos etc.

Com o tempo, os danos causados pelos radicais livres em lipídeos, proteínas e no DNA (mitocondrial e nuclear) vão se acumulando. Muitos autores consideram que esse acúmulo pode ser responsável pelo fenótipo de envelhecimento. De fato, muitas mutações no DNA mitocondrial, assim como uma diminuição no ritmo da cadeia respiratória, foram descritas nos linfócitos, músculos esqueléticos e cardiomiócitos de camundongos idosos. Tais modificações aumentam ainda mais a produção de radicais livres pela transferência direta de elétrons para o oxigênio, acelerando o processo.

Assim, as mitocôndrias vêm sendo consideradas um verdadeiro relógio do envelhecimento celular.

Doenças mitocondriais

Muitas doenças que afetam o metabolismo energético aeróbico, assim como doenças degenerativas, como Alzheimer e Parkinson (alguns autores incluem como doença o próprio processo de envelhecimento!), têm sido consideradas doenças mitocondriais. A partir de 1988, algumas doenças hereditárias foram incluídas nessa lista por serem causadas por danos no DNA mitocondrial. A maioria delas manifesta-se como encefalopatias ou miopatias. A mais estudada é a LHON (Neuropatia Óptica Hereditária de Leber), cujos pacientes herdam mitocôndrias com mutações. O fato de nem todas as mitocôndrias do zigoto serem afetadas (heteroplasmia) torna a distribuição de mitocôndrias pelos tecidos do indivíduo heterogênea e retarda o aparecimento da doença. Se é difícil prever que tecidos receberão mitocôndrias danificadas, mais difícil ainda é explicar o porquê da alta incidência de doenças neurológicas.

RESUMO

Veja, na **Figura 27.11**, o resumo do metabolismo mitocondrial.

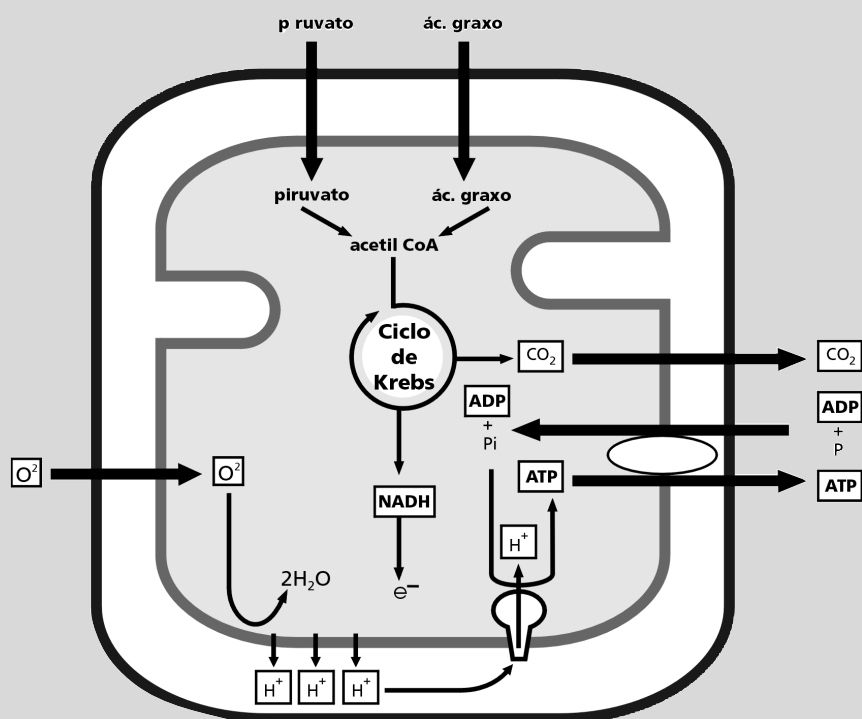


Figura 27.11: Resumo do metabolismo mitocondrial.

Os substratos piruvato ou ácido graxo chegam à matriz mitocondrial, onde são metabolizados, formando acetil-CoA.

A acetil-CoA entra no ciclo de Krebs.

Todos os NADH.H⁺ formados desde o início da quebra dos substratos alimentam a cadeia respiratória, que com a energia liberada bombeia prótons para fora.

Os prótons só podem voltar através da ATP sintetase, que forma ATP.

A entrada de ADP e a saída de ATP são controladas pela mesma proteína transmembrana.

Cloroplastos I: Características principais. Membranas e compartimentos

AULA

28

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conceituar os plastídeos e os tipos celulares que os possuem.
- Situar o surgimento dos plastídeos na escala evolutiva.
- Definir proplastídeo e as organelas que dele podem derivar.
- Descrever a organização ultra-estrutural dos cloroplastos.
- Associar cada compartimento e membrana do cloroplasto à sua função.
- Descrever os princípios de importação e endereçamento de proteínas para o cloroplasto.

INTRODUÇÃO

Os cloroplastos integram uma família de organelas que é exclusiva dos vegetais: os plastídeos. Assim como as mitocôndrias, acredita-se que os cloroplastos resultam de uma relação de simbiose entre uma bactéria autotrófica endocitada, mas não digerida, por um eucarionte primitivo. As evidências a favor desta hipótese são quase as mesmas das mitocôndrias:

- Os plastídeos possuem capacidade de autoduplicação;
- Possuem DNA e RNA próprios;
- São envolvidos por duas membranas, sendo a mais externa considerada um remanescente da membrana do vacúolo fagocítico.

Também, da mesma forma que as mitocôndrias, partes essenciais do DNA dos plastídeos foram transferidos para o núcleo, tornando impraticável sua sobrevivência fora do contexto celular.

Apesar dessas semelhanças, mitocôndrias e plastídeos se originaram a partir de precursores diferentes, havendo os segundos surgido muito mais recentemente na escala evolutiva. Uma evidência disso é que as mitocôndrias existem em células animais, fungos e vegetais, enquanto os plastídeos são exclusivos dos vegetais.

Além de mitocôndrias e cloroplastos, algumas outras organelas parecem haver resultado de relações de simbiose entre um eucarionte e um procarionte primitivos.

– Os peroxissomas, estudados na aula 30, possivelmente foram as primeiras organelas a consumir o oxigênio gerado pelas bactérias fotossintéticas. Como os primeiros eucariontes eram anaeróbios, o oxigênio era para eles uma molécula extremamente tóxica. Nessa função foram ultrapassados em eficiência pelas mitocôndrias.

– Os hidrogenossomos (**Figura 28.1**) são organelas envoltas por duas unidades de membrana exclusivas de alguns fungos e protozoários anaeróbios da família dos Tricomonadíneos (à qual pertence a *Trichomonas vaginalis*, parasita do trato urogenital humano). Nos hidrogenossomos ocorrem reações metabólicas onde é consumido hidrogênio molecular (H_2) e uma molécula de ATP é produzida.

– O apicoplasto (**Figura 28.2**) é uma organela exclusiva dos protozoários do filo Apicomplexa, que inclui o Plasmódio, causador da malária, e o *Toxoplasma*, causador da toxoplasmose. O apicoplasto parece resultar da endocitose de uma alga primitiva e é envolto por 4 membranas, além de conter ainda resquícios de DNA. Sua descoberta é relativamente recente e ainda não se sabe qual sua importância na sobrevivência desses protozoários.

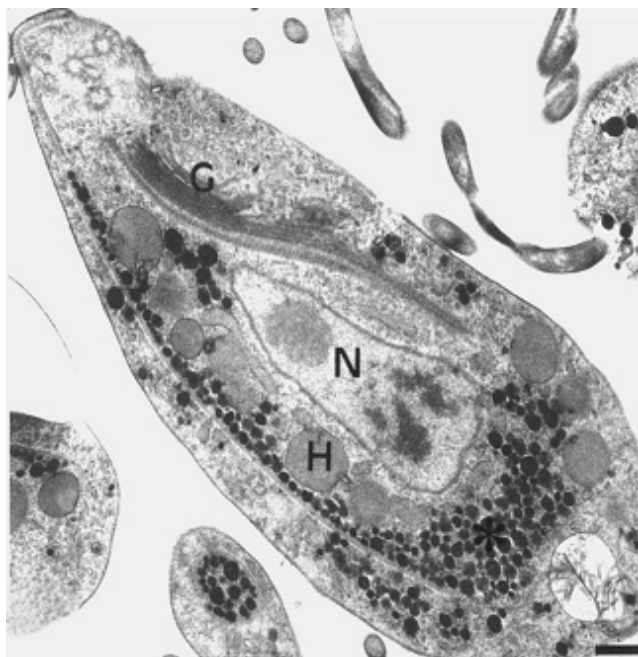


Figura 28.1: A *Tritrichomonas foetus* é um protozoário parasita anaeróbio. Parte do ATP que produz provém dos hidrogenossomas (H), organelas capazes de utilizar hidrogênio molecular para produzi-lo. N-núcleo, G-Complexo de Golgi. (Foto: Marlene Benchimol).

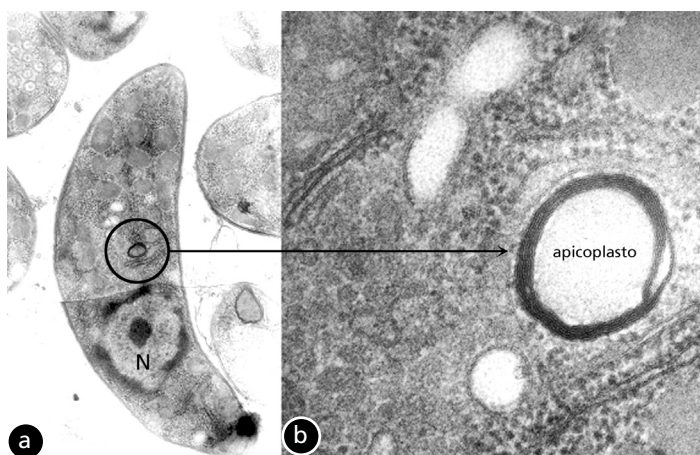


Figura 28.2: O *Toxoplasma gondii* (a) é um protozoário parasita que possui um plastídeo, o apicoplasto (b), localizado na porção anterior do corpo celular, acima do núcleo (N). Essa organela é envolvida por quatro unidades de membrana, mas seu papel na sobrevivência do parasita ainda não foi estabelecido. (Foto: Márcia Attias).

ORIGEM EMBRIONÁRIA DOS PLASTÍDEOS

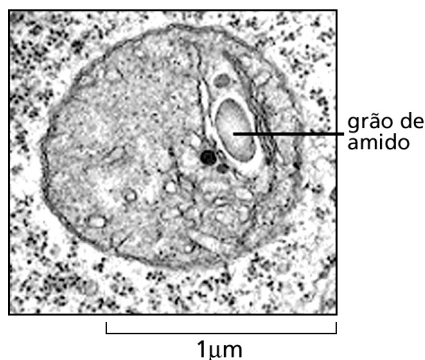


Figura 28.3: Os proplastídeos são pequenos, medindo cerca de 1µm. São limitados por duas membranas e sua matriz contém DNA e RNA próprios. Membranas internas e grãos de amido podem surgir precocemente. (Foto de B. Gunning & M. Steer, *Plant Cell Biology Structure and Function*.1996)

Todos os plastídeos de um vegetal têm origem numa organela precursora, o **proplastídeo**. Os proplastídeos são preexistentes no zigoto do vegetal, assim como as mitocôndrias, fazendo parte da herança citoplasmática. Os tecidos meristemáticos também possuem proplastídeos e, em condições adequadas, mesmo células já diferenciadas podem se *desdiferenciar* e voltar a ter proplastídeos. A morfologia dos proplastídeos é pouco característica: consiste em vesículas limitadas por uma dupla membrana, medindo cerca de 1µm de diâmetro (**Figura 28.3**).

Os proplastídeos crescem, dividem-se e diferenciam-se não apenas em cloroplastos. De acordo com as condições (fase do desenvolvimento, órgão ou tecido, estímulos físicos e hormonais), os proplastídeos podem dar origem a **leucoplastos**, que são brancos e podem conter moléculas de reserva como amido (os *amiloplastos*) ou óleos e gorduras (os *elaioplastos*). Se o vegetal iniciar seu desenvolvimento na ausência de luz os proplastídeos se diferenciarão em **etioplastos**, que possuem um arranjo paracristalino de membranas e um pigmento precursor da clorofila (**Figura 28.4**). Nesta fase, se as condições forem alteradas e a planta começar a receber luz, os etioplastos se diferenciarão em cloroplastos, caso contrário, a planta acabará não sobrevivendo.

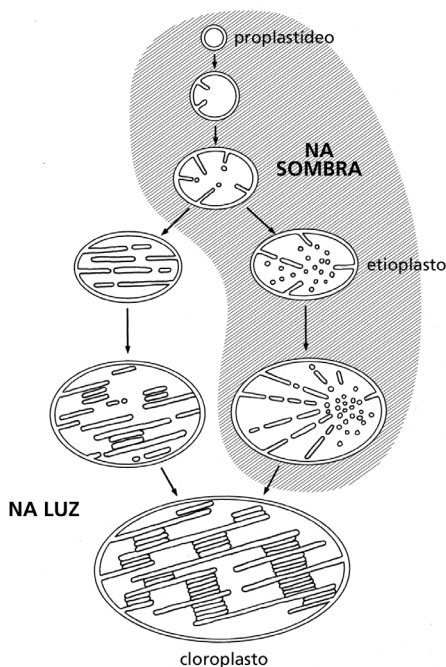


Figura 28.4: Esquema ilustrando o processo de diferenciação de um proplastídeo em cloroplasto. Caso a planta não receba estímulo luminoso, serão formados etioplastos. Esses podem se transformar em cloroplastos se as condições de iluminação forem corrigidas.

Cloroplastos em formas e números

Os cloroplastos foram uma das primeiras organelas a serem identificadas. Também pudera, além de razoavelmente grandes, podendo medir vários micrômetros, os cloroplastos são naturalmente coloridos e existem em grande número nas células vegetais. Uma célula do parênquima foliar possui, em média, cerca de 50 cloroplastos. Em geral os cloroplastos são lentiformes (em forma de lentilha), mas algumas algas possuem cloroplastos que, além de enormes, possuem formatos muito curiosos; veja na **Figura 28.5**.

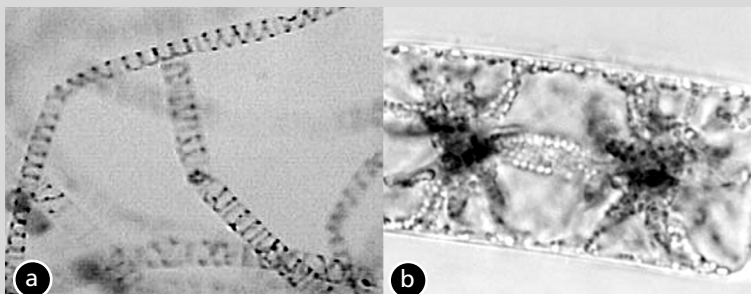


Figura 28.5: Os cloroplastos da alga *Spirogyra* (a) são em forma de uma fita espiralada. Já na *Zignema* (b) o cloroplasto único é estrelado.

Fontes: (A) http://www.pgjr.alpine.k12.ut.us/science/whitaker/Plant_Kingdom/Spirogyra/Spirogyra.html.
(B) <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artjun99/sdzyg.html>.

MEMBRANAS E COMPARTIMENTOS DO CLOROPLASTO

Embora compartilhem várias características (ambos estão envolvidos na produção de energia e se originaram de procariontes endocitados por células primitivas), não é nada difícil distinguir entre uma mitocôndria e um cloroplasto: basta comparar a cor e o tamanho de um e de outro (**Figura 28.6**).

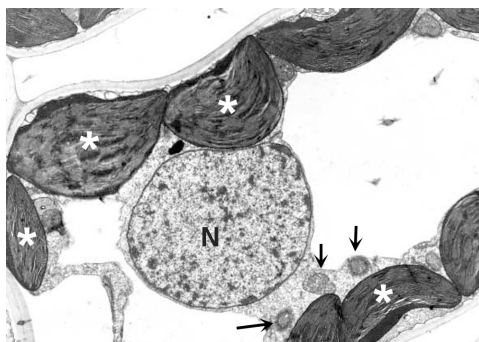


Figura 28.6: Uma célula vegetal observada ao microscópio eletrônico. Note a diferença de tamanho e forma entre mitocôndrias (seta) e cloroplastos (*). N-núcleo
Foto: Raul D. Machado

Analisando de modo comparado a ultra-estrutura de mitocôndrias e cloroplastos (**Figura 28.7**), vemos que ambos são envoltos por duas membranas mas, enquanto nas mitocôndrias a membrana interna se invagina, formando as cristas mitocondriais, nos cloroplastos esta membrana é contínua. Em contrapartida, os cloroplastos

possuem um terceiro sistema de membranas que forma pilhas de cisternas interconectadas, as membranas tilacóides, que limitam um compartimento: o espaço tilacóide. As três membranas do cloroplasto definem três compartimentos: além do espaço tilacóide, há o espaço intermembranas e o estroma, análogos, respectivamente, ao espaço intermembranas e à matriz mitocondrial.

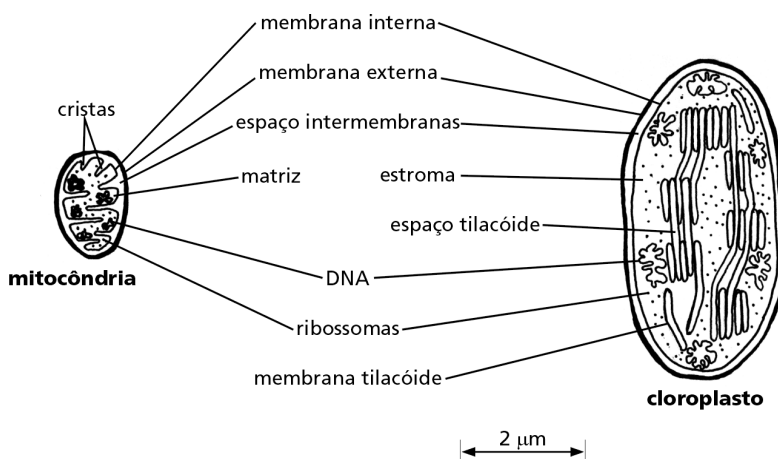


Figura 28.7: Esquema comparativo das principais características morfológicas de mitocôndrias e cloroplastos. Além do tamanho, os pigmentos inseridos nas membranas tilacóides conferem cor aos cloroplastos. A matriz mitocondrial é semelhante ao estroma do cloroplasto por conter o DNA e o RNA da organela.

Como já comentado, a **membrana externa do cloroplasto** corresponde, evolutivamente, à membrana do vacúolo endocítico. Ela é dotada de vários pontos de passagem para moléculas que entram e saem do cloroplasto. Da mesma forma que nas mitocôndrias, uma parcela significativa do genoma das bactérias que deram origem aos cloroplastos foi incorporada ao DNA nuclear; assim, a maior parte das proteínas e enzimas do cloroplasto é sintetizada no citoplasma e, por apresentar seqüências de endereçamento específico, são importadas com o auxílio de complexos translocadores para o compartimento ou membrana apropriados (**Figura 28.8**). Os complexos translocadores das membranas externa e interna do cloroplasto são chamados complexos TIC e TOC (o TIC na membrana interna e o TOC na externa) e são análogos ao sistema TIM-TOM existente nas mitocôndrias. Esse processo de importação é feito com gasto de energia.

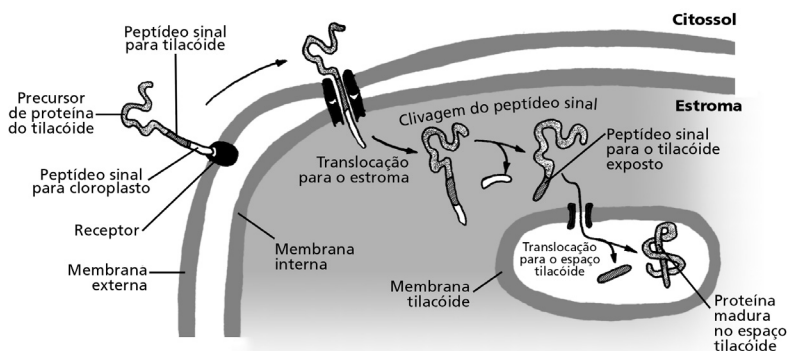


Figura 28.8: A maior parte das proteínas do cloroplasto é sintetizada no citosol e possui uma sequência sinal que é reconhecida por um receptor presente na membrana externa da organela. A membrana externa e a interna possuem proteínas que formam um complexo translocador pelo qual a proteína passa para o estroma. A primeira sequência sinal é clivada, mas se a proteína tiver uma segunda sequência sinal, endereçando-a ao espaço tilacóide, ela será transferida para lá, onde assumirá sua forma madura (ativa).

A membrana interna do cloroplasto difere bastante da membrana interna da mitocôndria. Não apenas não apresenta cristas como também não possui os citocromos transportadores de elétrons e os complexos de ATP sintase. Essa membrana também apresenta complexos protéicos que atuam como pontos de passagem para a importação de moléculas.

Como já foi dito o estroma (Figura 28.9) é o compartimento do cloroplasto correspondente à matriz mitocondrial. Nesse espaço estão distribuídos o DNA e os ribossomos do cloroplasto. Aí também se processam várias vias metabólicas essenciais para a célula. Todos os fosfolipídeos das células vegetais são sintetizados no estroma, onde se acumulam como plastoglôbulos, assim como vários aminoácidos. O estroma também pode armazenar carboidratos na forma de grãos de amido. Entretanto, de todas as reações que se processam no estroma, a mais significativa é o ciclo de fixação do carbono, que estudaremos na próxima aula.

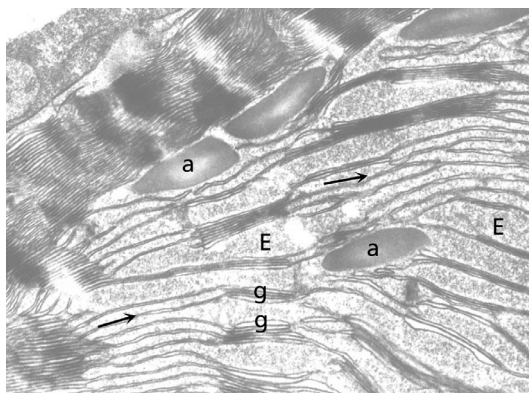


Figura 28.9: Micrografia eletrônica de um cloroplasto onde se observa o estroma (E), de aspecto granuloso devido à presença de ácidos nucléicos. As membranas tilacóides () que se empilham, formando os grana (g) e grãos de amido (a). Foto: Dr. Raul D. Machado.

As **membranas tilacóides** limitam o **espaço tilacóide** e consistem em cisternas achatadas que se empilham, formando os **grana** (Figura 28.9).

Nas membranas tilacóides estão inseridos os pigmentos fotossensíveis, principalmente clorofilas e carotenóides, transportadores de elétrons análogos aos citocromos das cristas mitocondriais e a ATP sintase, responsável pela produção de ATP nessa organela. Na mitocôndria o gradiente de prótons se estabelece através da membrana mitocondrial interna e ATP sintase fica inserida na membrana interna voltada para a matriz mitocondrial, onde são formadas as novas moléculas de ATP. Já no cloroplasto, o gradiente de prótons é formado entre o espaço tilacóide, onde eles se acumulam, e o estroma. As ATP sintases voltam sua porção catalítica para o estroma, onde se formam os novos ATP (Figura 28.10). Esta já é uma diferença fundamental entre mitocôndrias e cloroplastos e, ainda mais crucial é o fato de que o ATP é gerado nas mitocôndrias a partir de energia derivada da quebra de moléculas orgânicas, enquanto no cloroplasto, são necessárias apenas energia luminosa e água para produzi-lo. Fantástico e intrigante, não? Vamos saber mais sobre isso na próxima aula.

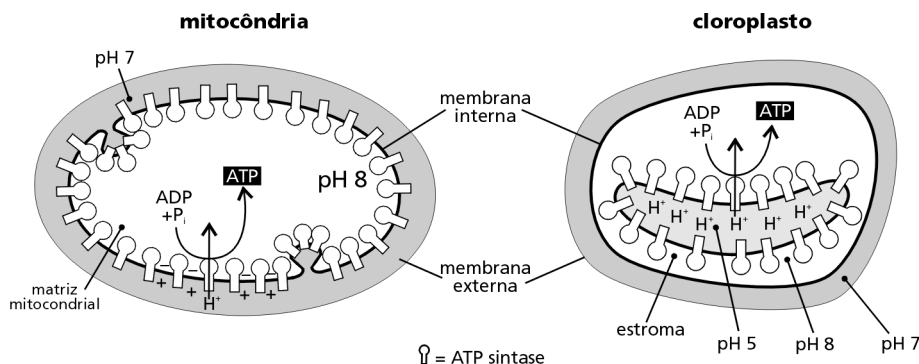


Figura 28.10: Esquema comparativo da disposição dos complexos de síntese de ATP nas mitocôndrias e nos cloroplastos. Na mitocôndria o gradiente de prótons se acumula no espaço intermembranas e o ATP é produzido na matriz. Já no cloroplasto os complexos de ATP sintase estão inseridos nas membranas tilacóides e os prótons se acumulam no espaço tilacóide. O ATP é produzido no estroma.

RESUMO

Os cloroplastos são organelas exclusivas dos vegetais, originando-se a partir de proplastídeos presentes no zigoto.

Acredita-se que os cloroplastos tiveram origem na endocitose de bactérias fotossintéticas que estabeleceram uma relação simbiótica com a célula hospedeira.

Os cloroplastos são limitados por três membranas: a membrana externa, a membrana interna e as membranas tilacóides, que delimitam três compartimentos: o espaço intermembranas, o estroma e o espaço tilacóide.

A maior parte das proteínas dos cloroplastos é sintetizada no citossol e possui seqüências de endereçamento que as direcionam para a membrana ou compartimento ao qual pertencem.

No estroma do cloroplasto estão localizados ácidos nucléicos, grãos de amido e enzimas responsáveis por várias atividades como a síntese de lipídeos e o ciclo de fixação do carbono.

As membranas tilacóides possuem pigmentos como a clorofila, transportadores de elétrons e um complexo ATP sintase, produzindo ATP e NADPH.H⁺ a partir de energia luminosa e H₂O.

EXERCÍCIOS

1. Por que acredita-se que os cloroplastos se originaram a partir de uma bactéria fotossintética englobada por uma célula primitiva?
2. Dê três diferenças entre mitocôndrias e cloroplastos.
3. Quem surgiu primeiro: as mitocôndrias ou os cloroplastos?
4. O que são proplastídeos?
5. O que são: leucoplastos, elaioplastos, amiloplastos, etioplastos?

6. Quais as membranas e compartimentos que formam o cloroplasto? Esquematize.
7. Que reações ocorrem no estroma?
8. Que reações ocorrem nas membranas tilacóides?

Cloroplastos II: O complexo antena. Fases dependente e independente de luz

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Relacionar as reações de transferência de elétrons ao local onde ocorrem, seus requisitos energéticos e moleculares e seus produtos.
- Relacionar as reações de fixação do carbono ao local onde ocorrem, seus requisitos energéticos e moleculares e seus produtos.

INTRODUÇÃO

Os cloroplastos são organelas que fazem parte da família dos plastídeos, exclusiva dos vegetais. Graças a eles, os vegetais são capazes de realizar fotossíntese, um conjunto de reações nas quais, a partir de energia luminosa, água e CO_2 , são sintetizadas moléculas orgânicas. O O_2 atmosférico do qual dependem as reações oxidativas da mitocôndria é, na verdade, um subproduto das reações fotossintéticas. Vimos, na aula anterior, as principais características morfológicas dos cloroplastos. Vamos, nesta aula, associar os compartimentos e membranas dos cloroplastos às suas funções.

A fotossíntese compreende dois fenômenos distintos

Embora interdependentes, as muitas reações que compõem a fotossíntese podem ser divididas em dois grandes grupos (Figura 29.1):

- as reações de transferência de elétrons;
- as reações de fixação do carbono.

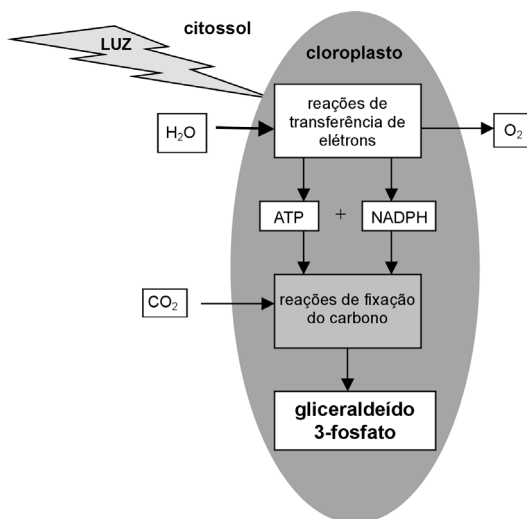


Figura 29.1: A fotossíntese compreende dois grupos de reações: as reações de transferência de elétrons, que dependem diretamente de energia luminosa, e as reações de fixação de carbono, que dependem de moléculas energéticas produzidas na outra fase. O produto primário da fixação do carbono é uma molécula orgânica de três carbonos, o gliceraldeído 3-fosfato, precursor de açúcares, ácidos graxos e aminoácidos.

Fase clara, fase escura. Isso está certo? É bem possível que você tenha aprendido que a fotossíntese se compõe de uma fase clara, ou luminosa, ou dependente de luz; e uma fase escura, ou independente de luz. Essa nomenclatura caiu em desuso na medida em que hoje se sabe que o pH ideal para a atividade das enzimas da “fase escura” depende das reações de transferência de elétrons, isto é, da “fase clara”. Portanto, ambas as fases dependem de luz para funcionar.

AS REAÇÕES DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

Este conjunto de reações consiste na absorção de energia luminosa (fótons) por pigmentos fotossensíveis inseridos nas membranas tilacóides. Essas moléculas são, principalmente, as clorofilas e os carotenóides, mas em algas e bactérias fotossintéticas, existem outros pigmentos como a bacteriorrodopsina e as xantofilas.

A energia luminosa captada por esses pigmentos será convertida em energia química e armazenada em moléculas de ATP ou, temporariamente, em NADPH (nicotina adenina di-nucleotídeo fosfato). No processo, moléculas de água são quebradas e oxigênio molecular (O_2) é liberado.

Clorofilas, carotenóides & Cia.: os pigmentos fotossensíveis

Aceitamos com naturalidade que a maioria das folhas (o principal local onde é feita a fotossíntese) seja verde, pois aprendemos, desde a mais tenra infância, que as folhas possuem cloroplastos e que estes contêm clorofila, um pigmento verde sem o qual a fotossíntese não seria possível. Contudo, o que é a clorofila? É uma proteína? Um açúcar? Um lipídeo? Será que o cloroplasto é um “saquinho” cheio de clorofila? Será que a clorofila contida na fórmula dos cremes dentais e outros cosméticos pode, por si só, fazer fotossíntese?

É claro que você sabe que não é por escovar os dentes com creme dental clorofilado que a gente vai fazer fotossíntese a cada sorriso, mas apostamos que neste ponto da leitura, sua curiosidade já foi despertada para várias outras perguntas.

Na Aula 28, você aprendeu que, longe de ser um “saquinho de clorofila”, o cloroplasto possui uma organização interna complexa e que os pigmentos fotossensíveis se encontram associados às membranas tilacóides.

A clorofila é uma molécula complexa (Figura 29.2), formada por um átomo de magnésio contornado por um anel porfirínico (uma estrutura similar à molécula de hemoglobina, na qual um átomo de ferro situa-se no centro do anel). Os átomos sensíveis aos fótons são justamente os do anel porfirínico. A molécula de clorofila se insere na bicamada lipídica da membrana tilacóide por uma longa cadeia hidrofóbica. Outros pigmentos fotossensíveis, como os carotenóides, também possuem cadeias hidrofóbicas para inserção na bicamada lipídica das membranas tilacóides.

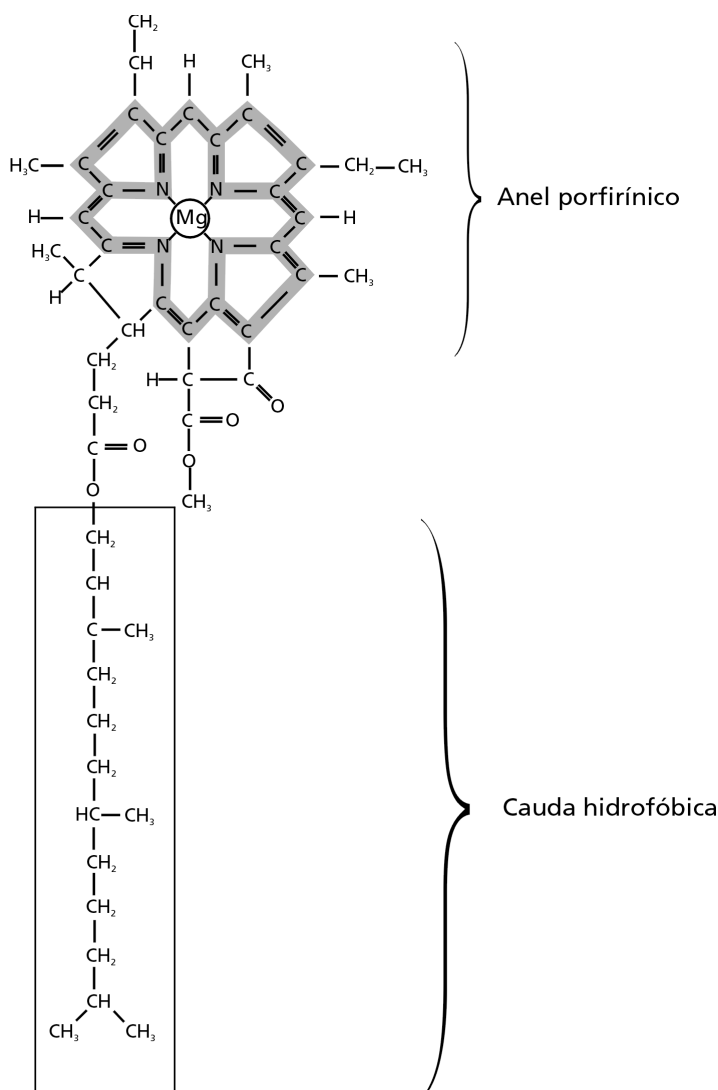


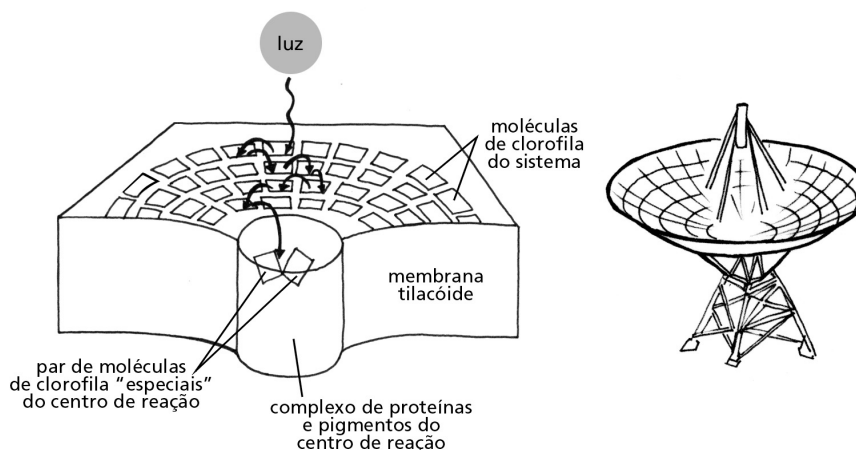
Figura 29.2: A molécula de clorofila possui um anel porfirínico em torno de um átomo de magnésio e uma cauda hidrofóbica pela qual se insere na bicamada lipídica.

OS FOTOSSISTEMAS

As clorofilas e demais pigmentos fotossensíveis não se distribuem aleatoriamente na membrana tilacóide. Eles se agrupam em **fotossistemas**, complexos captadores e transdutores da energia luminosa. De forma análoga às antenas parabólicas, a energia luminosa (fótons) captada por esses pigmentos é repassada aos pigmentos vizinhos e converge para um complexo protéico: o centro de reação fotoquímica (**Figura 29.3**). Cada grupo de clorofilas e outros pigmentos dispostos ao redor de um centro de reação fotoquímica é chamado **sistema antena**, já que, como as parabólicas, serve à captação de fótons, assim como as antenas captam sinais de rádio ou TV.

Sabemos hoje que existem dois tipos de fotossistema: tipo I e tipo II. Os nomes foram dados pela ordem cronológica em que foram descobertos, mas a atividade do fotossistema I depende de elétrons originados do fotossistema II, como veremos mais adiante.

Figura 29.3: As moléculas de clorofila do sistema antena captam a energia contida em fótons e a repassam, até que essa energia ative duas clorofilas contidas no centro da reação fotoquímica. Essa organização lembra a de uma antena parabólica (inserção).



Pigmentos fotossensíveis

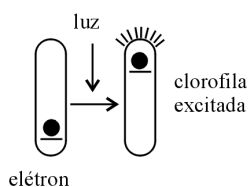
As clorofilas, carotenóides e outros pigmentos são ditos fotossensíveis porque, ao interagir com um fóton, um dos elétrons dos átomos que formam o anel porfirínico adquire energia suficiente para pular para um orbital de nível mais alto. Isso significa que a clorofila consegue *colocar* a energia de um fóton (energia luminosa) em um elétron, que passa a ser de alta energia. Quando um dos elétrons da clorofila passa para um orbital superior, dizemos que ela está no estado excitado. Não é difícil concluir que, havendo luminosidade, ainda que artificial, as moléculas de clorofila estão constantemente passando a esse estado excitado. Entre-

tanto, o *pulo do gato* da fotossíntese consiste em fazer essa energia do fóton que foi transferida para o elétron da clorofila ser repassada, para que moléculas energéticas como o ATP possam ser sintetizadas.

Uma vez excitada, a molécula de clorofila fica instável. Para voltar ao estado de repouso, a energia desse elétron, que subiu de orbital, pode ter três destinos (**Figura 29.4**):

- 1- ser dispersada como calor;
- 2- ser transferida para uma molécula de clorofila vizinha;
- 3- o elétron de alta energia pode ser doado para uma molécula receptora e substituído por um elétron de baixa energia.

EXCITAÇÃO DA CLOROFILA



VIAS DE DECAIMENTO DA CLOROFILA

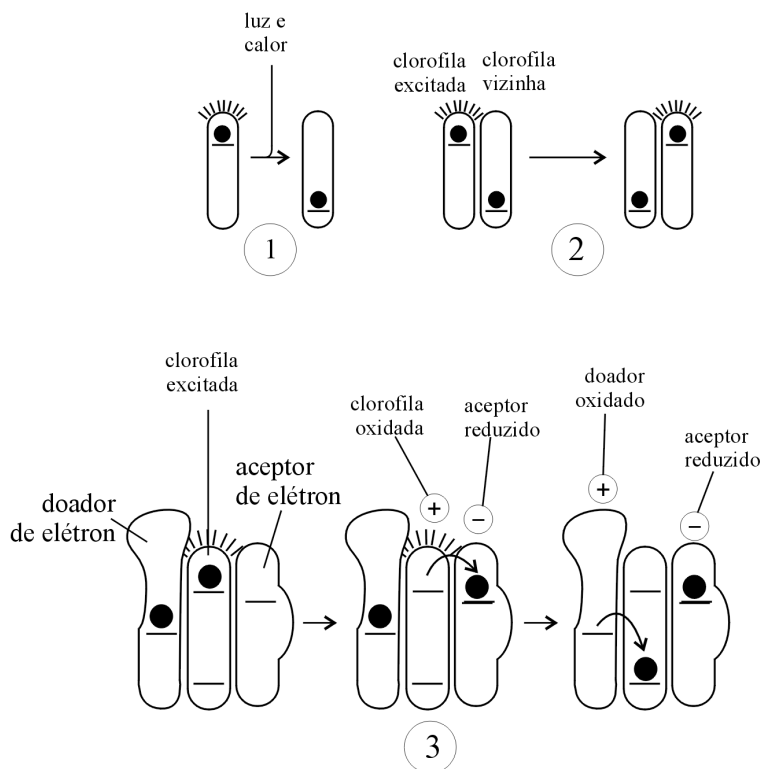


Figura 29.4: A energia luminosa absorvida pela clorofila eleva um de seus elétrons a um orbital de maior energia. Para voltar ao estado de repouso a clorofila pode: 1) emitir luz e calor, 2) repassar essa energia para uma clorofila vizinha; 3) doar o elétron de alta energia para uma molécula aceitadora, substituindo-o por um elétron de baixa energia.

A simples emissão de luz e calor, embora ocorra, significa que nenhuma energia está entrando no sistema biológico. Se observarmos cloroplastos ao microscópio óptico iluminado por luz ultravioleta, veremos que eles são autofluorescentes, emitindo luz na faixa do vermelho.

Já a **transferência de energia** entre clorofilas vizinhas é observada entre as clorofilas do sistema antena. Estas atuam como boas captadoras e condutoras, mas como transferir efetivamente essa energia para o centro de reação? Isso só vai acontecer quando as clorofilas do centro de reação fotoquímica forem excitadas. Aí não apenas a energia, mas os elétrons que subiram de orbital serão doados a uma molécula aceptora. Para que a clorofila não fique carregada, o elétron doado é substituído por um elétron de baixa energia, doado por uma molécula doadora. Vamos ver quem são essas moléculas?

Transferência de energia entre as clorofilas do sistema antena pode ser comparada ao trabalho de funcionários que se limitam a encaminhar papéis entre si, sem resolver efetivamente nada.



Já na transferência de elétrons, a energia contida neles é passada para uma nova molécula, não podendo mais retroceder ou ser dispersada como luz e calor. Essa doação acontece porque a molécula aceptora é mais estável que a clorofila para receber esse elétron.



Elétrons: toma lá, dá cá!

Uma vez atingindo o centro de reação fotoquímica, o elétron de alta energia vai ser doado e, assim como ocorre na membrana mitocondrial interna, vai percorrer uma **cadeia de transportadores de elétrons**. O elétron que o substitui é doado pela água numa reação enzimática muito particular – a fotólise da água. Nessa reação, a água é *quebrada* em oxigênio (O_2), prótons (H^+) e elétrons (e^-).

A enzima que catalisa essa reação faz parte do complexo de reação fotoquímica do fotossistema II e possui um átomo de manganês em sua estrutura. Você já deve ter percebido que, para que seja formado O_2 , mais de uma molécula de água tem de ser quebrada. Todo o oxigênio atmosférico, do qual tanto dependemos, foi formado assim, a partir da atividade das primeiras bactérias fotossintéticas.

Os demais produtos da fotólise da água são os prótons (H^+), que são estocados no espaço tilacóide, e os elétrons, que serão usados para substituir aqueles de alta energia doados pela clorofila.

A jornada dos elétrons

Conforme já comentamos antes, os elétrons de alta energia vão percorrer uma cadeia de transportadores, que fica na membrana tilacóide e é composta por complexos protéicos apresentados mais adiante. Durante o percurso, a energia é progressivamente gasta, enquanto ocorre uma série de eventos importantes, descritos a seguir e resumidos na **Figura 29.5**.

1- A **plastoquinona** é uma molécula pequena e hidrofóbica que transporta os elétrons entre o centro de reação fotoquímica do **fotossistema II** e o complexo de **citocromos B_6-f** , no qual prótons do estroma são transferidos para o espaço tilacóide.

2- Do citocromo B_6-f os elétrons são transportados por outra molécula pequena e hidrofóbica, a **plastocianina**, até o **fotossistema I**.

3- Aqueles elétrons que partiram cheios de energia do fotossistema II chegam ao fotossistema I no bagaço e são utilizados para substituir elétrons de alta energia doados pela clorofila do centro de reação fotoquímica do fotossistema I.

4- Os elétrons que partem do fotossistema I são transportados pela **ferredoxina** até o complexo enzimático **NADPH reductase**, que reduz NADP formando $NADPH^+$.

A produção de ATP

O *resultado* dessa cadeia transportadora de elétrons é a formação de NADPH, que será usado em outros processos metabólicos, e uma grande quantidade de prótons (H^+), derivados tanto da quebra da água quanto bombeados do estroma, que se acumula no espaço tilacóide.

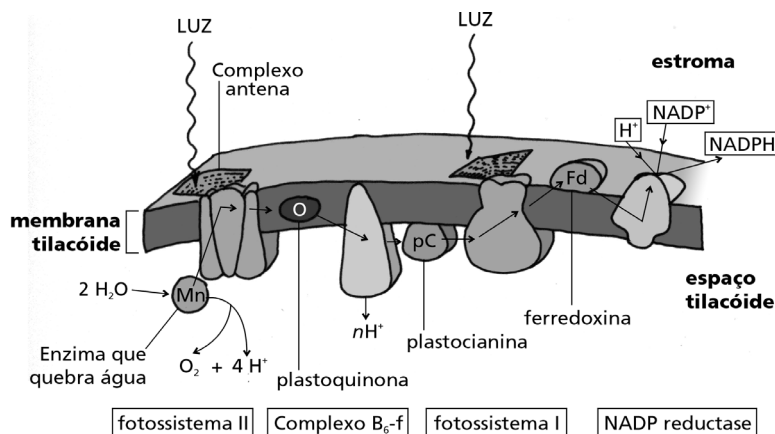


Figura 29.5: Trajeto dos elétrons ao longo da membrana tilacóide. As setas indicam a perda progressiva de energia dos elétrons ao longo do processo.

A membrana do espaço tilacóide é, assim como todas as membranas biológicas, extremamente impermeável a íons, impedindo que os prótons se difundam através dela. Assim, o pH do espaço tilacóide é muito ácido, próximo de 3. Em contrapartida, como parte dos H⁺ do estroma foram importados para o espaço tilacóide durante a cadeia transportadora de elétrons, o pH do estroma é levemente básico (cerca de 8,0) nos períodos em que as reações de eletrontransferência estão ocorrendo. Nessa situação, já deu para perceber que há um forte gradiente favorável à saída de prótons do espaço tilacóide. A única via de passagem é um complexo protéico da membrana tilacóide em tudo semelhante à ATP sintase da membrana mitocondrial interna (**Figura 29.6**). No cloroplasto, em vez de nos referirmos às subunidades do complexo como F₀ e F₁, chamamos as mesmas CF₀ e CF₁. Ao passar pela subunidade CF₀, os prótons fazem girar a subunidade CF₁ e promovem a síntese de ATP a partir de ADP e P_i. Este ATP poderá ser utilizado tanto nas reações de fixação do carbono, que estudaremos em seguida, quanto em qualquer outra via metabólica do cloroplasto ou do resto da célula.

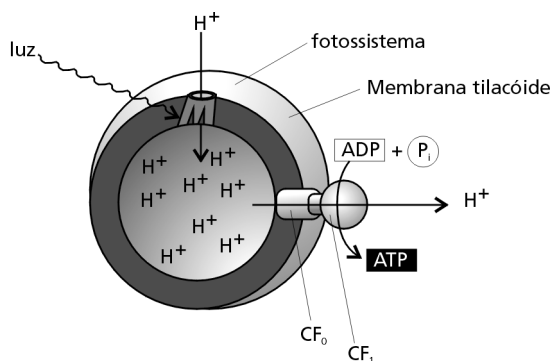


Figura 29.6: A partir da luz que incide nos fotossistemas, forma-se um gradiente de prótons entre o estroma e o espaço tilacóide. Ao passar pela subunidade CF_0 da ATP sintase da membrana tilacóide, esses prótons fazem girar a subunidade CF_1 , o que propicia a síntese de ATP.

A FIXAÇÃO DO CARBONO

O que quer dizer *fixação do carbono*? Fixar um carbono significa inserir um átomo de carbono contido numa molécula inorgânica, como o CO_2 , em uma molécula orgânica, como a glicose. Aliás, foi assim que a maioria de nós aprendeu a fotossíntese. Entretanto, a glicose é uma molécula muito grande e complexa. Não seria nada *prático* ter uma molécula como essa como produto inicial, pois para sintetizar todas as outras moléculas (ácidos graxos, aminoácidos, outros açúcares etc.) ela teria de ser inicialmente *desmontada*. É mais interessante que o produto primário da fixação do carbono seja uma molécula mais simples, como o gliceraldeído 3-fosfato (**Figura 29.7**).

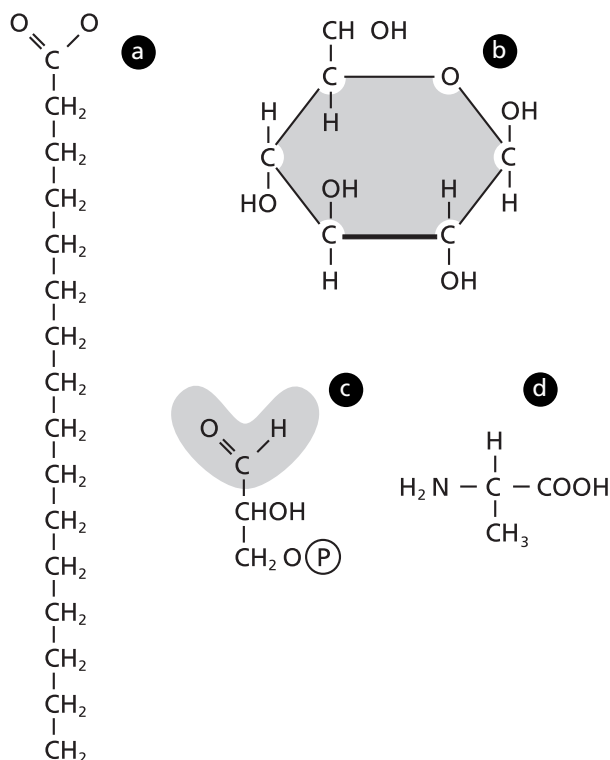


Figura 29.7: Estrutura plana das moléculas de: (a) um ácido graxo, ácido palmítico; (b) glicose; (c) um aminoácido, alanina e, (d) o gliceraldeído 3-fosfato.

As reações de fixação do carbono ocorrem no estroma numa via cíclica conhecida como Ciclo de Calvin (você já estudou isso em Bioquímica), em homenagem ao seu descobridor. Numerosas enzimas participam desse ciclo, mas a *chave* do processo consiste na incorporação do carbono do CO_2 a uma molécula orgânica de cinco carbonos, a ribulose 1,5-bifosfato. A enzima que catalisa essa reação é a ribulose 1,5-bifosfato oxi-carboxilase, a **rubisco**. Leia um pouco mais sobre ela no box. Embora a rubisco catalise uma reação na qual uma molécula de um carbono é *somada* a uma molécula de cinco carbonos, o *resultado dessa operação* não é uma molécula de seis carbonos (como a glicose), e sim duas moléculas de três carbonos (gliceraldeído 3-fosfato) (**Figura 29.8**).

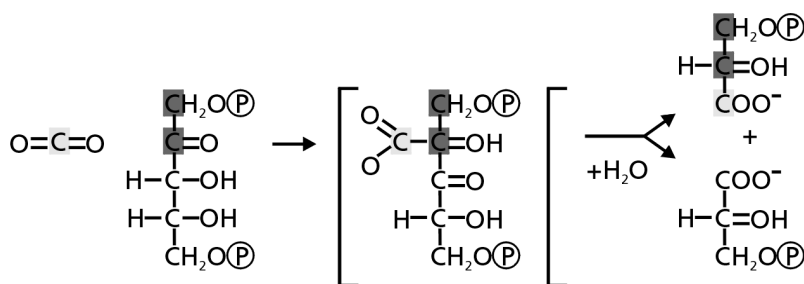


Figura 29.8: A enzima rubisco catalisa a incorporação do carbono do CO_2 à ribulose 1,5-bifosfato, produzindo duas moléculas de três carbonos, o gliceraldeído 3-fosfato. O carbono proveniente do CO_2 foi sombreado em cinza, para facilitar sua localização.

Rubisco, a proteína mais abundante na terra

A rubisco, ou ribulose 1,5-bifosfato oxicarboxilase, é um complexo enzimático presente em grande quantidade no estroma dos cloroplastos (e no citoplasma de bactérias fotossintéticas). Genes contidos no DNA do cloroplasto codificam algumas das subunidades desse complexo protéico, embora a maior parte dos genes envolvidos esteja contida no DNA nuclear. Sem ela não haveria a fixação do carbono, comprometendo a viabilidade de toda a cadeia alimentar. Seu nome, embora pareça complicado, nada mais é do que a compilação de suas propriedades funcionais. Quer ver?

Ribulose: é o açúcar de cinco carbonos que participa da reação.

1,5-bifosfato: a ribulose é fosfatada nos carbonos 1 e 5.

Oxi-carboxilase: se a concentração de O_2 no estroma estiver muito alta, essa enzima catalisa a oxidação da ribulose 1,5-bifosfato; uma reação que faz parte da fotorrespiração, um fenômeno que você vai conhecer mais adiante nesta aula; mas se o CO_2 predominar, a reação favorecida será a de carboxilação, isto é, adição do carbono do CO_2 .

Por que será que essa enzima pode funcionar *contra nós*, consumindo o O_2 produzido a partir da quebra da água e sem produzir as moléculas orgânicas de que dependem não apenas as plantas, mas todos os seres heterotróficos? Supõe-se que, como a atmosfera da Terra primitiva demorou muito para acumular oxigênio em níveis críticos, a ponto de competir com o CO_2 pela rubisco, a seleção natural incorporou a enzima com essa conformação. Aliás, não apenas o funcionamento dessa enzima no sentido de síntese depende da concentração do substrato (CO_2 ou O_2), como ela é uma das enzimas mais lentas que se conhece, mas é a única capaz de catalisar a fixação do carbono inorgânico. Por isso existe em tão grande quantidade: é uma forma de compensar a falta de velocidade! O fato é que deu certo, a prova disso é a exuberância e a variedade de formas de vida no planeta.

COMO FUNCIONA O CICLO DE FIXAÇÃO DO CARBONO

Se a cada volta do ciclo (Figura 29.9) as duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato produzidas fossem sendo usadas para sintetizar novas moléculas como glicose, aminoácidos ou ácidos graxos, logo não haveria ribulose 1,5-bifosfato para captar novos carbonos. Assim, como uma empresa em que apenas a parte do lucro é retirada e o capital inicial é sempre reinvestido na firma, o ciclo de fixação do carbono regenera a ribulose 1,5-bifosfato para que ela seja reutilizada na captação de mais carbono. Assim, são necessárias três voltas do ciclo para que uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato seja produzida, ou seja, a ribulose é o "capital de giro" e, após girar três vezes, gera o lucro, isto é, o gliceraldeído 3-fosfato.

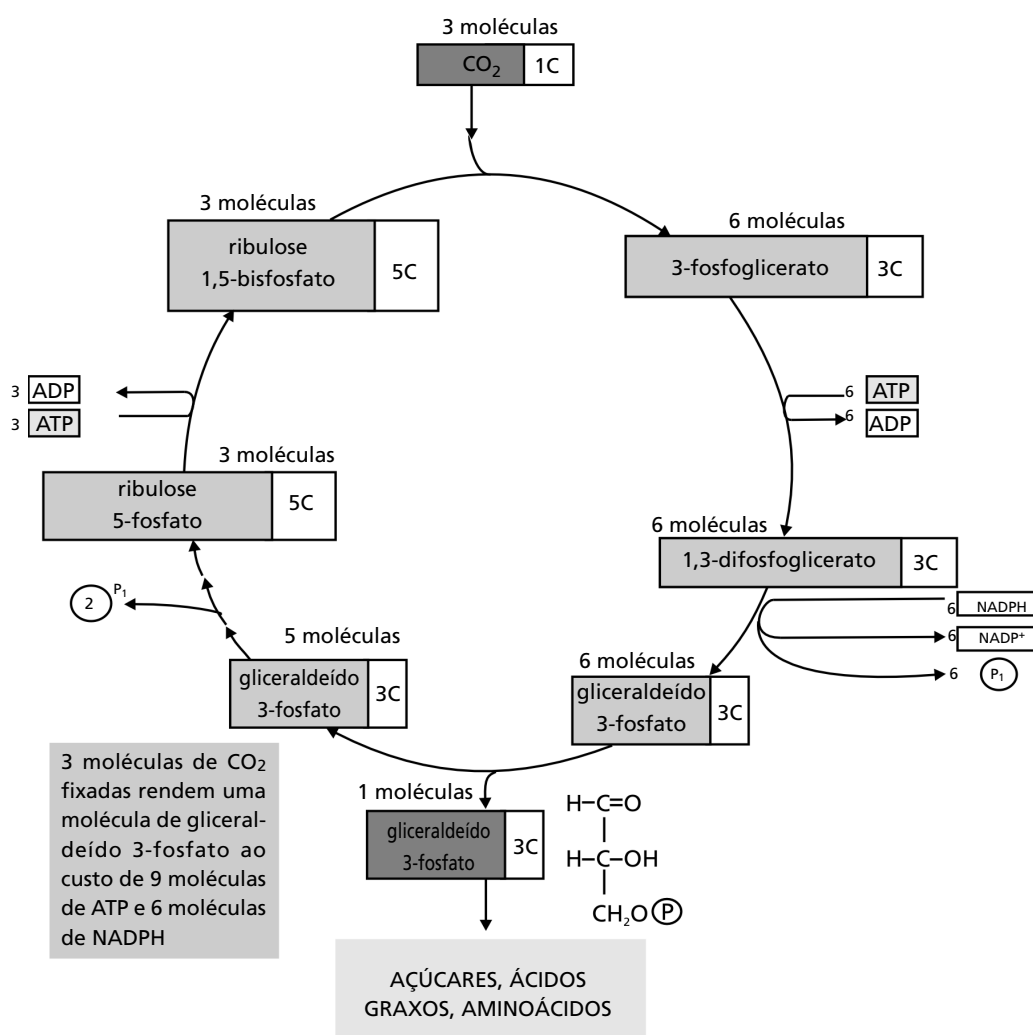


Figura 29.9: O ciclo de fixação do carbono funciona de modo a regenerar as moléculas intermediárias. A cada três átomos de carbono fixados, é produzida uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato, precursora das demais moléculas orgânicas.

A FOTORRESPIRAÇÃO

As folhas são os órgãos fotossintéticos por excelência (**Figura 29.10**). O oxigênio produzido nos cloroplastos se difunde para os espaços entre as células foliares (parênquima lacunoso), e daí para o meio ambiente pelos estômatos. Também é por difusão simples que o gás carbônico passa ao parênquima lacunoso e daí para o interior das células. É o mesmo princípio das trocas gasosas que ocorrem nos alvéolos pulmonares e que já comentamos nas aulas de transporte através da membrana.

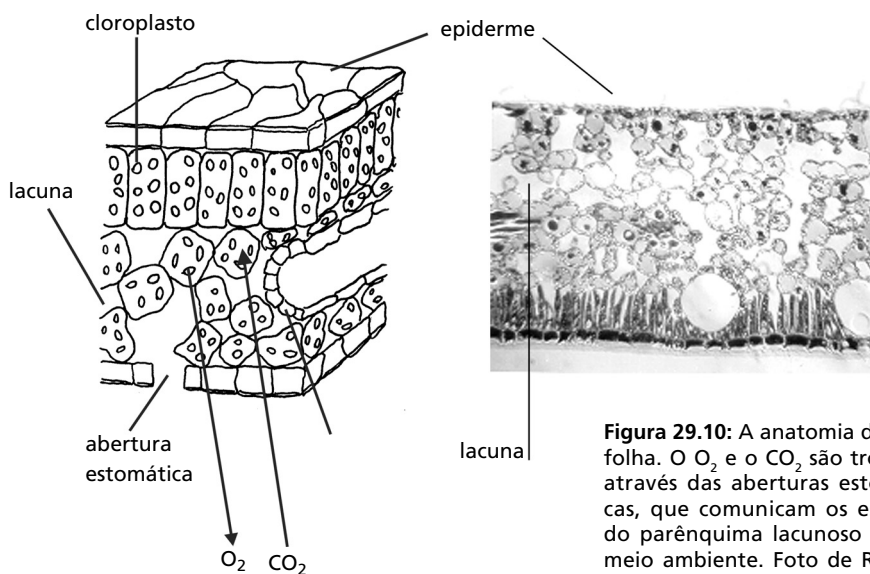


Figura 29.10: A anatomia de uma folha. O O_2 e o CO_2 são trocados através das aberturas estomáticas, que comunicam os espaços do parênquima lacunoso com o meio ambiente. Foto de Raul D. Machado.

Pois bem, a transpiração das plantas, isto é, a perda de água decorrente do aumento da temperatura ambiente, também ocorre através das aberturas estomáticas. Nas horas mais quentes do dia, essa perda de água pode ser bastante significativa e isso é evitado pelo fechamento dos estômatos durante esse período. Ora, com os estômatos fechados, o oxigênio produzido não tem como passar do parênquima lacunoso para a atmosfera, assim como o CO_2 fica impedido de entrar. Nessa condição a concentração de O_2 é bem maior que a de CO_2 , o que favorece a **fotorrespiração**, uma reação catalisada pela rubisco na qual ela atua como oxigenase e não como carboxilase, consumindo O_2 e ATP e produzindo fosfo-glicolato, uma molécula metabolicamente inútil. O fosfoglicolato produzido no cloroplasto é exportado para outra organela, o peroxissoma (veja Aula 30) no qual será convertido em glicina e daí seguirá para a mitocôndria, gerando CO_2 e serina, uma molécula de três carbonos. As principais etapas desse ciclo, chamado via do glicolato, estão representadas na **Figura 29.11**. O processo não

apenas produz CO_2 como também consome energia e O_2 ! Apesar dessa desvantagem, a fotorrespiração, é um fenômeno natural e calcula-se que cerca de 1/3 do CO_2 fixado seja perdido por esse processo. Entretanto, em climas mais quentes e secos, os estômatos permanecem fechados a maior parte do dia. Como será que as plantas se adaptaram para sobreviver nesse ambiente?

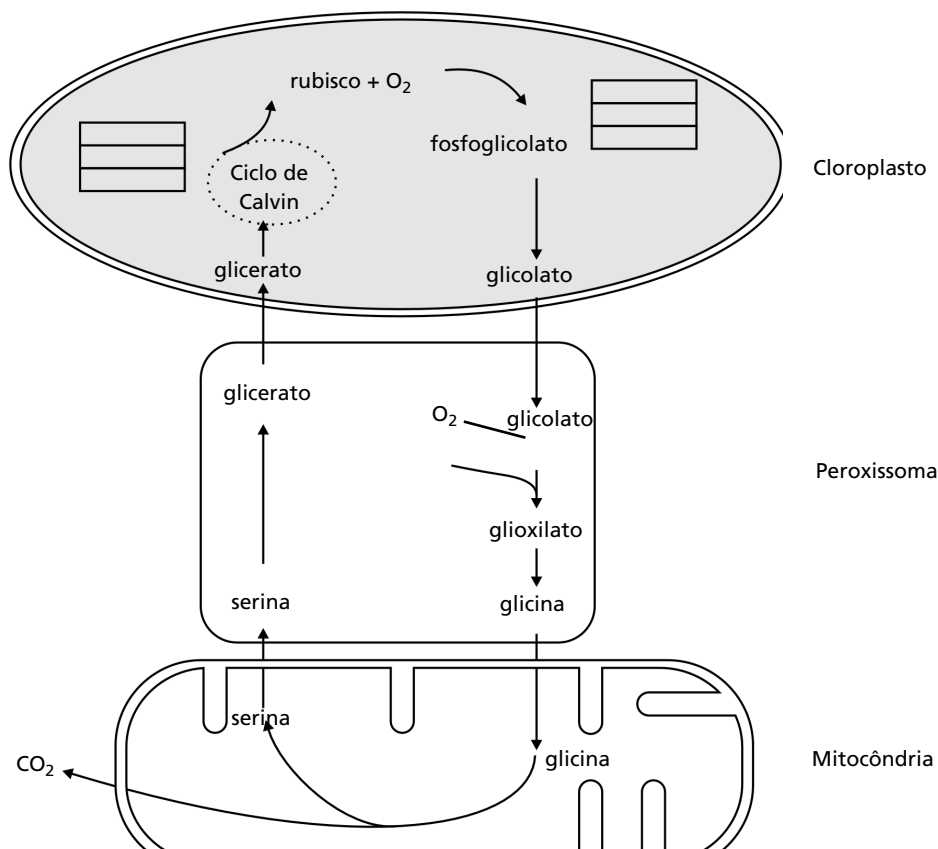


Figura 29.11: A via do glicolato passa pelo peroxissoma e pela mitocôndria. A serina produzida na mitocôndria será convertida em glicerato no peroxissoma e esse, finalmente, será incorporado ao ciclo de fixação do carbono (Ciclo de Calvin).

As plantas C3 e C4

Em várias plantas de clima quente e seco, nas quais os estômatos permanecem fechados a maior parte do dia, a perda energética devida à fotorrespiração é minimizada pela existência de uma via alternativa para a fixação do carbono. Nas plantas ditas **C3**, o processo de fixação do carbono se dá em todas as células do parênquima foliar e resulta numa molécula de três carbonos (o gliceraldeído 3-fosfato). Já nas plantas **C4**, a fixação do carbono ocorre principalmente nas células que circundam o feixe vascular que distribuirá as moléculas sintetizadas (floema ou seiva elaborada) (**Figura 29.12**). O CO_2 é bombeado para essas células e incorporado a uma molécula intermediária de quatro carbonos. O milho

e a cana-de-açúcar são plantas C4, o que bem exemplifica e comprova a eficiência dessa via de fixação do carbono para a síntese de compostos orgânicos como a sacarose da cana e a glicose, e o amido armazenados nos grãos de milho.

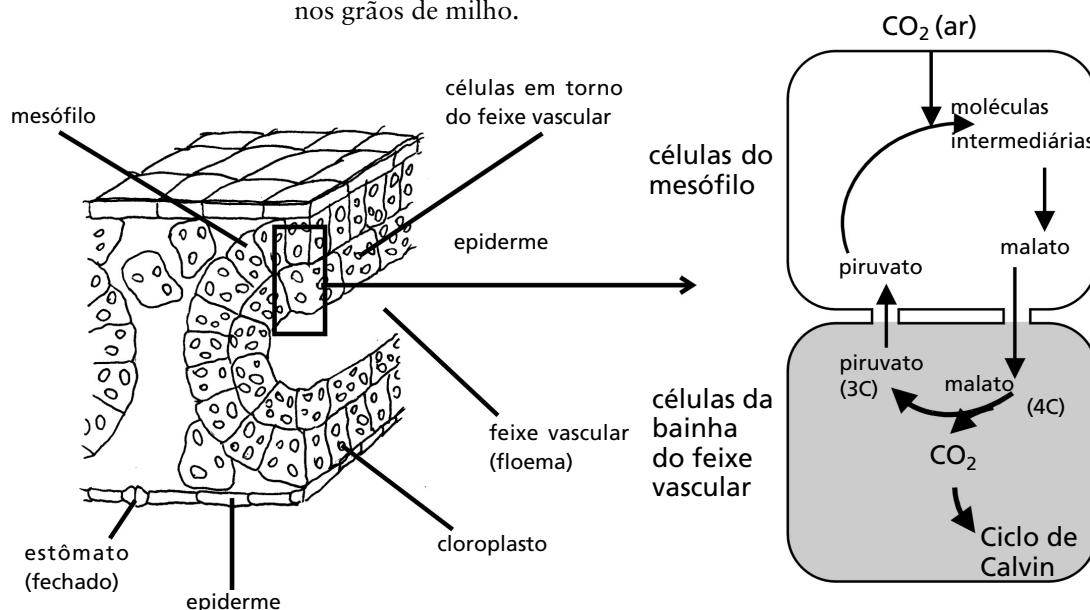


Figura 29.12: Nas plantas C4, o CO_2 é bombeado das células do mesófilo para as células em torno do feixe vascular, no qual ocorre a fixação do carbono (Ciclo de Calvin).

RESUMO

A fotossíntese compreende duas fases interdependentes: as reações de transferência de elétrons e as reações de fixação do carbono.

As reações de transferência de elétrons ocorrem nos fotossistemas existentes nas membranas tilacóides, nas quais elétrons dos pigmentos como a clorofila e os carotenóides absorvem energia luminosa e são doados para uma cadeia de transportadores de elétrons.

À medida que os elétrons são transferidos de uma molécula para outra, sua energia vai decaindo e vai sendo utilizada para transferir prótons do estroma para o espaço tilacóide e para sintetizar NADPH.

O gradiente de prótons formado no espaço tilacóide gera um fluxo de prótons através do complexo ATP sintase CF_0/CF_1 da membrana tilacóide, gerando ATP a partir de ADP e fosfato.

Os fotossistemas são formados por um sistema antena de clorofilas em torno de um centro de reação fotoquímica. Existem dois tipos de fotossistema que atuam em conjunto.

As reações de fixação do carbono ocorrem no estroma e consistem na incorporação do carbono de uma molécula de CO_2 a uma molécula orgânica.

A principal reação da fixação do carbono é catalisada pela enzima rubisco, ou ribulose bifosfato oxi-carboxilase, tendo como substrato a ribulose 1,5-bifosfato.

O produto primário da fixação do carbono é o gliceraldeído 3-fosfato. São necessárias três moléculas de CO_2 e três voltas no ciclo para que uma molécula de gliceraldeído seja sintetizada.

Quando a concentração de O_2 aumenta, a rubisco catalisa a reação de fotorrespiração, que não fixa CO_2 e gasta energia.

Nas plantas C4, os efeitos negativos da fotorrespiração são minimizados pela formação de um composto intermediário de quatro carbonos.

EXERCÍCIOS

1. Considerando as membranas e espaços do cloroplasto, onde ocorrem, respectivamente as reações de transferência de elétrons e o ciclo de fixação do carbono?
2. O que é um sistema antena?
3. É correto nos referirmos ao ciclo de fixação do carbono como sendo a fase independente de luz da fotossíntese? Por quê?
4. Como se dá a síntese de ATP no cloroplasto?
5. O que é a fotólise da água? Qual o destino de seus produtos?

6. O que é a rubisco? Para que serve?
7. O que é fotorrespiração?
8. Quais são as plantas C4? O que as caracteriza?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Caracterizar os microcorpos em termos históricos, morfológicos e bioquímico.
- Evidenciar a importância evolutiva dos peroxissomos.
- Descrever a biogênese de peroxissomos.
- Relacionar os peroxissomos às funções celulares de:
 - detoxificação
 - oxidação de lipídeos;
 - germinação de sementes;
 - fotossíntese pela via C4;
 - síntese de lipídeos.
- Relacionar peroxissomos e doenças hereditárias.

Pré-requisitos

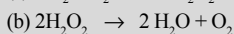
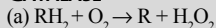
Metabolismo mitocondrial.

Fotossíntese.

Lipídeos de membrana.

INTRODUÇÃO

CATALASE



(a) Os peroxissomos são capazes de oxidar moléculas (RH_2), dando origem à água oxigenada (H_2O_2). (b) A H_2O_2 gerada é, a seguir, degradada a H_2O e O_2 .

No início da década de 60, a combinação de observações ao microscópio eletrônico com métodos bioquímicos levou à descoberta de um novo tipo de organela capaz de produzir peróxido de hidrogênio (água oxigenada) e usar a enzima **CATALASE** para gerar água e oxigênio mais adiante (**Figura 30.1**). Denominadas inicialmente microcorpos, a presença de enzimas oxidativas e a produção de peróxido de hidrogênio levou os pesquisadores a criar o termo peroxissomos para designar essas organelas de formato geralmente esférico, medindo cerca de $0,5\mu\text{m}$ de diâmetro.

O PEROXISSOMO É CAPAZ DE PRODUZIR ENERGIA A PARTIR DE REAÇÕES QUÍMICAS?

Os peroxissomos diferem das mitocôndrias e dos cloroplastos em vários aspectos:

- são envolvidos por apenas uma membrana;
- não possuem DNA próprio;
- as reações oxidativas que nele se processam **não** levam à produção de moléculas energéticas, como ATP e NADH.H^+ .

ENTÃO POR QUE ELES ESTÃO INCLUÍDOS NO MÓDULO DE ORGANELAS COM ORIGEM SIMBIÓTICA E PRODUTORAS DE ENERGIA?

Assim como mitocôndrias e cloroplastos, novos peroxissomos surgem a partir do crescimento e da fissão de peroxissomos preexistentes. Da mesma forma que essas organelas, os peroxissomos também realizam reações de oxidação, o que deve ter sido fundamental para a sobrevivência dos eucariontes primitivos e anaeróbios num planeta onde o surgimento de bactérias fotossintéticas fez aumentar muito o teor de oxigênio. Para esses anaeróbios, o oxigênio era extremamente tóxico. O surgimento, talvez a partir da internalização de um procarioto, de uma organela capaz de utilizar o O_2 , neutralizando assim seus efeitos, permitiu a sobrevivência desses eucariontes primitivos. O estabelecimento dos peroxissomos como organelas é bem anterior às mitocôndrias, por isso, os peroxissomos já teriam transferido todo o seu DNA para o núcleo. Com o estabelecimento da relação simbiótica que resultou na mitocôndria, os peroxissomos se tornaram, num certo sentido, organelas *obsoletas*, já que as mitocôndrias utilizam o oxigênio de uma forma muito mais vantajosa para a célula, levando à produção de ATP.

Então o peroxissomo é uma organela dispensável?

De forma alguma! Os peroxissomos continuam presentes em todas as células eucariontes, desempenhando importantes funções de detoxificação e metabolizando lipídeos. De acordo com o tipo celular, as enzimas peroxissomais podem variar; assim, os peroxissomos formam, na verdade, uma **família de organelas** com funções específicas em tipos celulares diversos.

A concentração de enzimas no interior dos peroxissomos pode ser tão grande que elas chegam a se cristalizar (**Figura 30.1**). Veremos, a seguir, a importância dos peroxissomos em diversos tipos celulares.

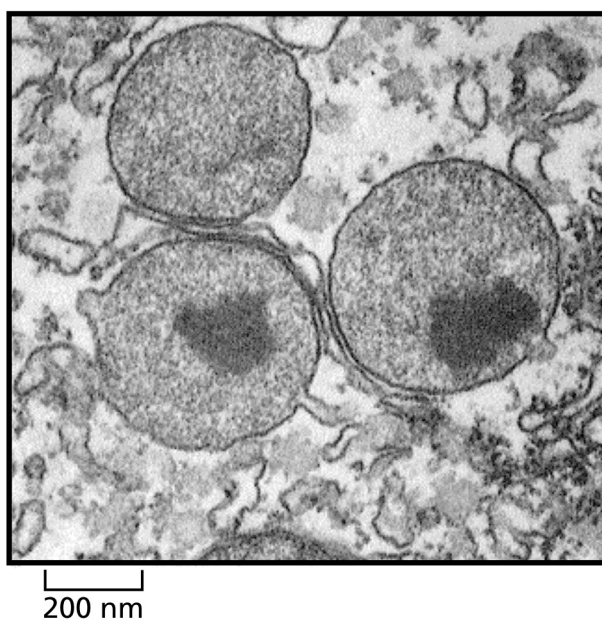


Figura 30.1: Grupo de três peroxissomos em hepatócito de rato. A enzima urato-oxidase forma um arranjo pára-cristalino em dois deles.

Possivelmente, você já sabe que tanto o fígado quanto os rins são órgãos fundamentais para a neutralização e eliminação de moléculas tóxicas que circulam em nosso sangue, sejam elas ingeridas voluntariamente, como o álcool, ou produzidas pelo **METABOLISMO** celular. As células desses órgãos são ricas em peroxissomos (**Figura 30.2**), e cerca de 25% do etanol consumido por uma pessoa é oxidado a acetaldeído pelos peroxissomos. A água oxigenada gerada no processo é posteriormente convertida em água pela ação da catalase.

O METABOLISMO DO ÁLCOOL

Diversas bebidas, como o vinho e a cerveja, são produzidas por fermentação, isto é, leveduras convertem o açúcar contido nas uvas e na cevada anaerobicamente (glicólise) em piruvato e subsequentemente em acetaldeído e etanol. Nossos peroxissomos, em especial os dos hepatócitos, se encarregam de fazer o contrário, converter etanol em acetaldeído e daí em piruvato, que poderá ser utilizado pelas mitocôndrias na produção de ATP. Entende-se, portanto, porque o consumo habitual de álcool, entre outros problemas ainda mais graves, pode levar o indivíduo a engordar.

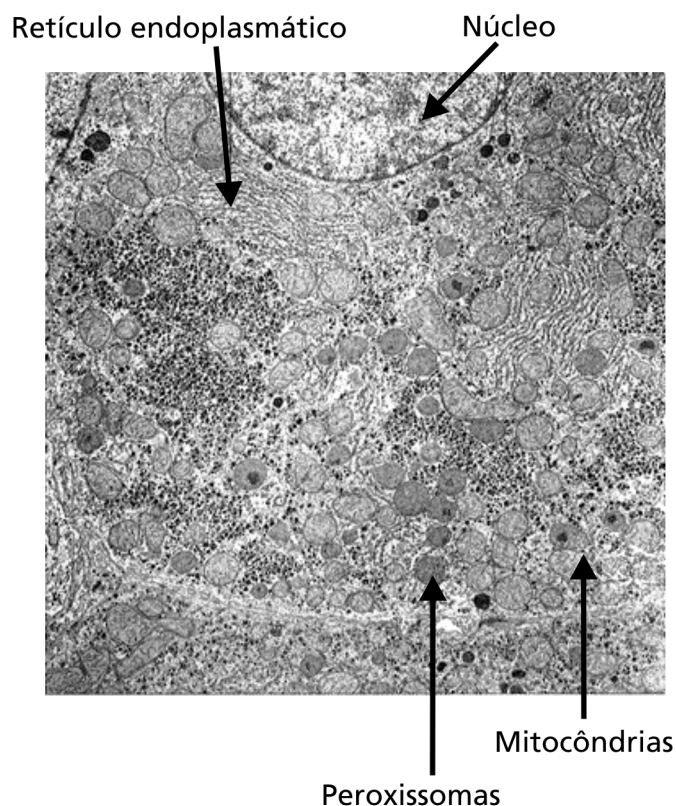


Figura 30.2: As células hepáticas possuem grande quantidade de peroxissomos, importantes para que o organismo elimine substâncias tóxicas como o álcool e outras drogas.

METABOLISMO DE LIPÍDEOS

Uma das funções mais importantes das reações oxidativas que ocorrem nos peroxissomos é a **β -oxidação de lipídeos**, que vem a ser a quebra de cadeias de ácidos graxos. Nesse processo, que também ocorre na matriz mitocondrial, as longas cadeias de ácidos graxos vão sendo desmontadas pela remoção de dois átomos de carbono de cada vez (**Figura 30.3**), dando origem à acetil-coenzima A (acetil-CoA). A acetil-CoA produzida é exportada para o citossol, onde é reciclada em novas reações de síntese, ou entra na mitocôndria, onde toma parte no ciclo do ácido cítrico. Nas células dos mamíferos, a mitocôndria também realiza β -oxidação, com a vantagem de que os produtos dessas reações são utilizados na cadeia respiratória e no ciclo do ácido cítrico, isto é, em última instância, produzem ATP. Em contrapartida, as células vegetais e os fungos são completamente dependentes dos peroxissomos para essas reações.

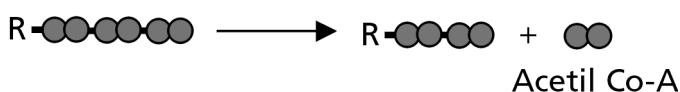


Figura 30.3: Na β -oxidação, os carbonos são removidos em grupos de dois da cadeia de hidrocarbonetos, dando origem à acetil-coenzima A.

SÍNTESE DE PLASMALOGÊNIOS

A **BAINHA DE MIELINA** que reveste os neurônios (veja o box) é rica em um tipo de fosfolípídeo chamado **plasmalogênio**. As primeiras etapas da síntese dessas moléculas ocorre nos peroxissomos. Isso explica por que muitas anomalias que afetam os peroxissomos resultam em doenças neurológicas.

BAINHA DE MIELINA

O sistema nervoso dos animais é formado pelos neurônios, células capazes de captar e transmitir sinais para outros neurônios ou para as chamadas células efetoras (músculos e glândulas, por exemplo). As mensagens nervosas caminham longas distâncias entre o local onde são recebidas e o local onde serão repassadas. Para que esse sinal viaje com rapidez e segurança, isto é, para que não perca sua intensidade e não seja repassado a células às quais não está direcionado, os neurônios são envolvidos pelas células de Schwan. Estas se enrolam em torno do neurônio, formando camadas e mais camadas de membranas ricas em fosfolípídeos: a bainha de mielina (Figura 30.4), que atua como uma *fita isolante*, impedindo que ocorra um curto circuito entre neurônios que estejam muito próximos. Observe a figura a seguir e, caso persistam dúvidas, volte à aula de transporte ativo. Estudaremos mais sobre essa associação em Biologia Celular II.

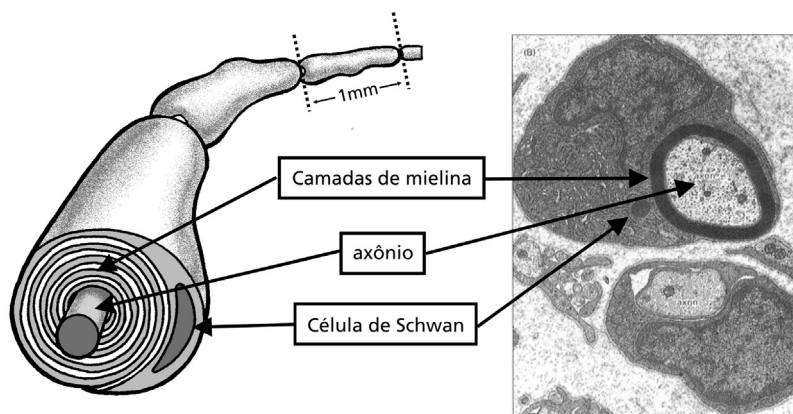


Figura 30.4: A célula de Schwan forma um verdadeiro "rocambole" de membranas em torno do axônio do neurônio.

IMPORTÂNCIA DOS PEROXISSOMOS PARA AS CÉLULAS VEGETAIS

A utilização dos ácidos graxos armazenados nas sementes em germinação também depende da atuação dos peroxissomos na sua conversão a açúcares que são utilizados nas primeiras etapas do desenvolvimento da planta. Essas reações são conhecidas como **ciclo do glioxilato**, o que levou esses peroxissomos a serem batizados de **glioxissomas** (Figura 30.5). As células animais, em contrapartida, são incapazes de converter ácidos graxos em carboidratos.

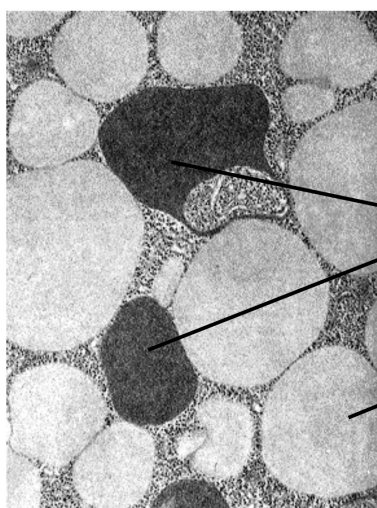


Figura 30.5: Nas sementes de vegetais, os glioxissomos contêm enzimas capazes de quebrar os lipídeos armazenados na semente e garantir as primeiras etapas de desenvolvimento do vegetal. [de WP Wergin, PJ Gruber & EH Newcomb, J. Ultrastruct. Res. 30 (1970)]

Glioxissoma

Inclusão lipídica

Na Aula 29, você também viu (Figura 29.11) que o glicolato produzido no cloroplasto durante a fotorrespiração passa para o peroxissomo, onde é convertido em glicina, e daí para a mitocôndria, onde são produzidos CO_2 e serina. Voltando ao peroxissomo, a serina dá origem à glicina, que volta finalmente ao cloroplasto na forma de glicerato. Um conjunto de reações complexo e metabolicamente inútil, já que consome energia e produz CO_2 .

PAPEL DOS PEROXISSOMOS NO METABOLISMO DE AÇÚCARES EM PROTOZOÁRIOS

Além da denominação genérica de microcorpos, fazem parte dessa família de organelas os peroxissomos propriamente ditos (que contêm catalase), os glioxissomos das sementes e os **glicossomos**. Este último é uma organela encontrada exclusivamente nos protozoários da família dos tripanosomatídeos (Figura 30.6).

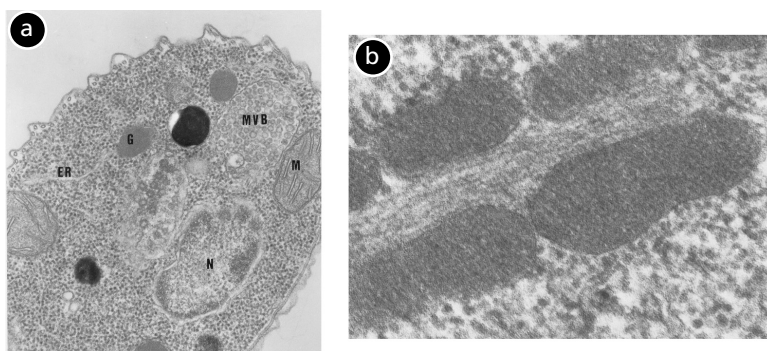


Figura 30.6: Os glicossomas são organelas exclusivas dos tripanosomatídeos que contêm enzimas da via glicolítica. Em (a) vemos um micrografia eletrônica de *Phytomonas davidi* onde estão assinalados os glicossomas (g), a mitocôndria (M), o núcleo (N), o retículo endoplasmático (ER) e o corpo multivesicular (MVB). Em (b) vemos alguns glicossomas em grande aumento. São envoltos por uma membrana e seu conteúdo tem uma densidade semelhante ao dos peroxissomas de outras células. (Fotos: Márcia Attias)

Esses protozoários são todos parasitas e muitos são agentes de doenças das quais você certamente já ouviu falar: a doença de Chagas, a leishmaniose e a **DOENÇA DO SONO**.

Os glicossomos receberam este nome por concentrarem numa organela nove das enzimas da via glicolítica, geralmente encontradas no citoplasma nas outras células eucarióticas. Essa organela permite que os parasitas utilizem a via glicolítica com grande eficiência, o que compensa o baixo rendimento energético dessa via anaeróbia.

Por que **DOENÇA DO SONO**?

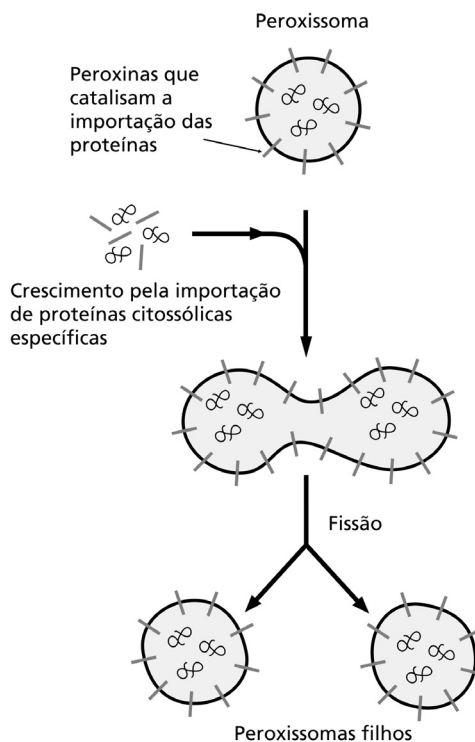
Na tripanosomíase africana, ou doença do sono, os parasitas *Trypanosoma gambiense* ou *T. rodhesiense* se instalam no sangue do hospedeiro humano e *roubam* glicose diretamente do sangue dele. Como a via preferencialmente executada por esses protozoários para produção de energia é a glicolítica, a baixa de glicose no sangue do hospedeiro resulta na fraqueza e sonolência que dão nome à doença.

SÍNTESE E DUPLICAÇÃO DOS PEROXISSOMOS

Os peroxissomos são capazes de reações diferentes daquelas executadas pelas mitocôndrias ou cloroplastos. Assim, seguem sendo organelas essenciais, e mutações que afetem a correta síntese ou importação de proteínas peroxissomais resultam em graves anomalias para o organismo afetado.

As proteínas peroxissomais são sintetizadas em ribossomos livres no citoplasma e, mediante uma sequência de endereçamento específica, direcionadas para um peroxissomo preexistente que cresce e se divide (**Figura 30.7**).

Figura 30.7: Acredita-se que novos peroxissomos se formam sempre a partir do crescimento e fissão de outros preexistentes. O crescimento depende da importação de proteínas peroxissomais produzidas no citossol e importadas pelas peroxinas.



Os detalhes do processo ainda não são bem conhecidos, mas sabe-se que essas seqüências de endereçamento são reconhecidas por proteínas do citossol que as importam para os peroxissomos. Já foram identificadas e classificadas como **peroxinas** mais de 20 proteínas que participam desse processo, que é movido pela hidrólise de ATP, isto é, trata-se de um transporte ativo.

Diferentemente do que acontece na importação de proteínas em mitocôndrias e cloroplastos, as proteínas peroxissomais são importadas na sua forma final, já enoveladas, como também é o caso das proteínas exportadas para o núcleo. Também é curioso assinalar que a **pex5** é uma peroxina que, após conduzir sua carga para dentro do peroxissomo, libera-a e volta para o citossol.

Então os peroxissomos são importantes mesmo?

Uma prova irrefutável da importância do correto funcionamento dos peroxissomos é a **síndrome de Zellweger**, doença hereditária na qual a importação das proteínas peroxissomais é defeituosa, o que resulta em peroxissomos *vazios*. Os indivíduos que nascem com esta síndrome possuem graves anomalias em seu cérebro, fígado e rins, morrendo em pouco tempo.

RESUMO

Os peroxissomos são organelas pertencentes a uma família, a dos microcorpos.

Os peroxissomos se caracterizam por possuírem enzimas oxidativas que dão origem a peróxido de hidrogênio e catalase, enzima que converte esse peróxido a água e O_2 .

Os peroxissomos participam na eliminação de substâncias tóxicas absorvidas pelas células, do metabolismo de síntese e degradação de lipídeos e de importantes vias metabólicas dos vegetais.

Embora não possuam DNA próprio, acredita-se que os peroxissomos surgiram como endossimbiontes das células eucariontes primitivas, onde ajudaram a neutralizar os efeitos tóxicos do acúmulo do O_2 produzido pelas bactérias fotossintéticas, sendo *substituídos* nessa função pelas mitocôndrias.

As proteínas dos peroxissomos são sintetizadas em ribossomos livres no citossol e transportadas para a organela, já na sua forma final, pelas peroxinas. Anomalias hereditárias que afetem a síntese ou endereçamento dos peroxissomos resultam em sérias anomalias neurológicas, hepáticas e renais que comprometem a sobrevivência dos indivíduos afetados.

EXERCÍCIOS

1. Por que os peroxissomos têm esse nome?
2. Quais as principais diferenças entre peroxissomos e mitocôndrias e cloroplastos?
3. Por que os peroxissomos formam uma família de organelas?
4. Quais são as principais funções dos peroxissomos?

Biologia Celular I

Gaboarito

1. Pelo seu tamanho. São muito grandes, quando comparadas às bactérias e outros procariontes e “desabariam” sob seu próprio volume.
2. Porque, além de pequenos, possuem uma parede celular, que lhes confere forma e a distância entre seus espaços internos e a superfície nunca é grande.
3. Forma, sustentação, movimento: da célula como um todo e das estruturas intracelulares.
4. Microfilamentos, microtúbulos e filamentos intermediários.
- 5.

	microfilamentos	microtúbulos	filamentos intermediários
Diâmetro	7 nm	25 nm	10 nm
Proteína característica	actina	tubulina	queratina, vimentina e outras
Estabilidade	muito dinâmicos, pouco estáveis	muito dinâmicos, pouco estáveis	maior estabilidade, pouco dinâmicos
Resistência	flexíveis mas pouco resistentes	pouco deformáveis	maior resistência
Localização na célula	periferia	central	acompanham os microtúbulos

Gabarito de identificação das figuras

Figura 21.1: Neurônio. Célula especializada em receber e enviar estímulos para outros neurônios, músculos ou glândulas.

Figura 21.2: Hemácias. Células especializadas em transportar CO_2 e O_2 de e para as células do organismo.

Figura 21.3: Células epiteliais. Especializadas em revestir áreas de contato com o meio externo, como a luz intestinal, e responsáveis pela absorção das moléculas digeridas.

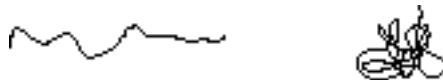
Gabarito da Paradinha esperta:

- movimento amebóide
- deslocamento de células aderidas
- movimento flagelar
- cromossomos no fuso mitótico

- anel de constrição entre as células-filhas
- fagocitose
- célula muscular se contraindo
- vesículas de secreção sendo exocitadas
- tráfego intracelular de vesículas **Aula 21**

Aula 22

1. A proteína fibrilar é alongada, e a globular é enovelada.



2. Os filamentos intermediários são formados por proteínas fibrilares.

3. São estruturas formadas pela combinação de quatro moléculas.

Porque ambos possuem NH_2 (amina) e COOH (carboxila) nas duas extremidades.

Se numa ponta do tetrâmero estivessem todas as extremidades NH_2 e na outra todas as COOH .

4. Tipicamente nos epitélios. A queratina também forma cabelos, pelos, unhas, cascos e garras. As penas das aves também são formadas por um tipo diferente de queratina.

5. Nos neurônios, os neurofilamentos; nas células da glia, a proteína ácida glial; e nos neurônios periféricos, a periferina.

6. Identificando-se os filamentos intermediários presentes nas células tumorais é possível descobrir a origem primária do câncer e optar por um melhor tratamento.

7. Vimentina, das células de origem mesenquimal: tecidos conjuntivos de modo geral e endotélio dos vasos.

Desmina, nas células musculares.

8. A esclerose amiotrófica lateral, onde o acúmulo de neurofilamentos no axônio dificulta o transporte do estímulo nervoso.

9. Para que o envoltório nuclear se desagregue. Nas células sem lâmina nuclear a mitose é dita fechada, isto é, ocorre sem que o envoltório se desfaça.

10. Grande parte da poeira que se acumula numa casa resulta da descamação de células epiteliais, das quais resta principalmente a queratina. Também nas sepulturas, os restos mortais se resumem a ossos, dentes e estruturas formadas por queratina. Quer dizer, podemos não vir do pó, mas certamente ao pó retornaremos...

1. São filamentos formados pela ligação linear de dímeros de α e β - tubulina. Treze protofilamentos dispostos em paralelo se fecham, formando um túbulo oco: o microtúbulo.
2. Os dímeros de tubulina que se incorporam ao microtúbulo sempre possuem um GTP ligado à subunidade β . Uma vez incorporados ao filamento, o GTP é hidrolisado a GDP, mas a contínua adição de novos dímeros ligados a GTP forma uma verdadeira tampa, que mantém o microtúbulo e estimula seu crescimento. Quando novos dímeros deixam de ser incorporados, a hidrólise do GTP na extremidade *plus* levará à instabilidade e à despolimerização do microtúbulo.
3. É a contínua incorporação de dímeros ligados a GTP e às extremidades do microtúbulo. Se a taxa de adição de dímeros na extremidade *plus* superar a taxa de perda de dímeros na extremidade *minus*, o microtúbulo crescerá. Se poucos dímeros forem incorporados, a exposição de unidades ligadas a GDP na extremidade do microtúbulo levará à sua rápida despolimerização.
4. É a região da célula onde se originam todos os microtúbulos. Também é chamada centrossomo. Caracteriza-se por ter proteínas específicas que nucleiam a formação de novos microtúbulos. A mais importante dessas proteínas é a γ -tubulina. Os centríolos também são encontrados nessa região, mas os centrossomas NÃO têm necessariamente centríolo; nem todas as células têm centríolos e todas têm centrossoma.
5. Dependem dos complexos de γ -tubulina em forma de anel que nucleiam a formação de novos microtúbulos e agem como uma proteção contra a perda de subunidades pela extremidade *minus*.
6. A estabilização dos microtúbulos fará com que o estoque de tubulina citoplasmática se esgote e impedirá a despolimerização, por exemplo, do fuso acromático. Isso impediria a finalização da mitose. Contudo, se os microtúbulos de uma célula forem desfeitos, a formação do fuso também será impedida e o resultado também será que a célula (cancerosa) não se dividirá e morrerá.
7. Além do fuso acromático (durante a mitose) e dos cílios e flagelos, os microtúbulos conferem a forma geral da célula e a disposição das organelas, servindo inclusive como *trilhos* para que elas trafeguem de um extremo a outro da célula.
8. Elas possuem dois (às vezes três) domínios globulares capazes de hidrolisar ATP e de se ligar e desligar alternadamente do microtúbulo, caminhando sobre ele. A outra extremidade da molécula se liga a uma vesícula ou organela (que será transportada) ou a outro microtúbulo, fazendo com que um se mova em relação ao outro.

9. Cílios e flagelos se organizam em nove pares de microtúbulos periféricos e um par central. Todos esses pares estão ligados aos adjacentes por nexinas e ao par central por conexões radiais. Moléculas de dineína ligadas a um par interagem com o microtúbulo do par adjacente *caminhando* sobre ele e causando a deformação do cílio ou flagelo. As nexinas e conexões radiais impedem que os microtúbulos deslizem um em relação ao outro, mas provocam seu encurvamento. Como nem todas as dineínas estão ativas num mesmo momento, um lado do cílio se encurva e o outro não, alternadamente.

Aula 24

1. É um filamento formado por moléculas de actina.
2. Cada molécula de actina possui em seu interior uma molécula de ATP que é hidrolisada a ADP quando um novo monômero se liga à extremidade plus do filamento.
3. É o fato de os microfilamentos, mesmo que não variem de tamanho, liberarem monômeros de actina na extremidade minus e incorporarem novos monômeros na extremidade plus.
4. Não.
5. A partir da formação do complexo Arp2/3, os monômeros de actina dão início ao novo filamento. Neste caso, os monômeros devem se desligar da timosina e se ligar à profilina.
6. A faloidina impede a despolimerização dos microfilamentos. A citocalasina impede a adição de novos monômeros. A primeira estabiliza os microfilamentos e a segunda promove sua despolimerização.
7. Adesão e movimentação das células como um todo e de estruturas intracelulares.
8. São feixes de microfilamentos que se conectam à membrana plasmática e conferem adesão e resistência à célula.
9. É um anel formado por feixes de actina que se contrai por ação da miosina entre os filamentos, fechando-se e levando ao estrangulamento e separação das células-filhas.
10. As miosinas possuem uma cabeça globular que se liga à actina e é capaz de hidrolisar ATP; a região entre a cabeça e a cauda da miosina se dobra nesse processo e faz com que a miosina puxe a actina, provocando o movimento.

1. Não. As mitocôndrias podem ser mais ou menos alongadas e diferem em tamanho mesmo dentro de um mesmo tipo celular. Tipos celulares diferentes também têm mitocôndrias com aspecto diferente (número e formato das cristas, por exemplo).
2. Membrana externa, membrana interna (com cristas), espaço intermembranas e matriz mitocondrial.
3. Parece-se com a membrana do retículo endoplasmático. Contém porinas e complexos protéicos de reconhecimento e importação (TOM).
4. É muito fluida e impermeável. Possui um fosfolípideo com 4 cadeias de ácidos graxos: a cardiolipina. Possui a maior relação proteína/lípideo de qualquer membrana (70/30). As proteínas mais importantes são: proteínas da cadeia respiratória, ATP sintases, transportadores e complexos translocadores (TIM).
5. Composição iônica e pH semelhantes ao citoplasma. Contém complexos enzimáticos que transferem o fosfato de parte do ATP produzido para outros nucleotídeos (GDP e UDP).
6. É um colóide, riquíssimo em proteínas e ácidos nucléicos. É onde ocorre o ciclo de Krebs.
7. Porque são capazes de utilizar O_2 e moléculas orgânicas para produzir grande quantidade de ATP. As células que não possuem mitocôndrias (anaeróbios) possuem um rendimento energético muito baixo, pois produzem ATP só através da glicólise.
8. As mitocôndrias se deslocam através do citoplasma, utilizando os microtúbulos e proteínas motoras associadas a eles como trilhos. Deslocam-se para as regiões da célula onde está havendo maior necessidade de produção de ATP. Em tipos celulares como o músculo cardíaco, há muitas mitocôndrias, sempre próximas às fibrilas contráteis.
9. As proteínas são sintetizadas em ribossomos citoplasmáticos e, uma vez completada sua síntese, são transportadas por chaperonas até os complexos translocadores TOM e TIM. De acordo com a sequência de endereçamento que possuem, dirigem-se ao compartimento ou às membranas mitocondriais adequados.
10. Existem muitas indicações:
 - a) a membrana externa se parece com a membrana de um vacúolo fagocítico;
 - b) as porinas são semelhantes às encontradas na membrana de bactérias gram negativas;
 - c) a membrana mitocondrial interna possui um fosfolípídio particular, a cardiolipina, que só é encontrado em procariotos;

d) o DNA e os RNAs mitocondriais são semelhantes em vários aspectos aos de bactérias;

Os inibidores da síntese de DNA mitocondrial são diferentes dos do núcleo e semelhantes aos que inibem as enzimas bacterianas.

Aula 28

1. Por serem envoltos por 2 membranas, uma da bactéria e outra que corresponderia ao vacúolo endocítico, por possuírem seu próprio DNA e RNA semelhantes ao de bactérias, por serem capazes de se auto-duplicar, por sua forma e tamanho e pela sensibilidade aos mesmo antibióticos que as bactérias.

2. As mitocôndrias são muito menores.

As mitocôndrias não possuem pigmentos comparáveis aos carotenóides e clorofilas

As mitocôndrias possuem 2 membranas e os cloroplastos 3.

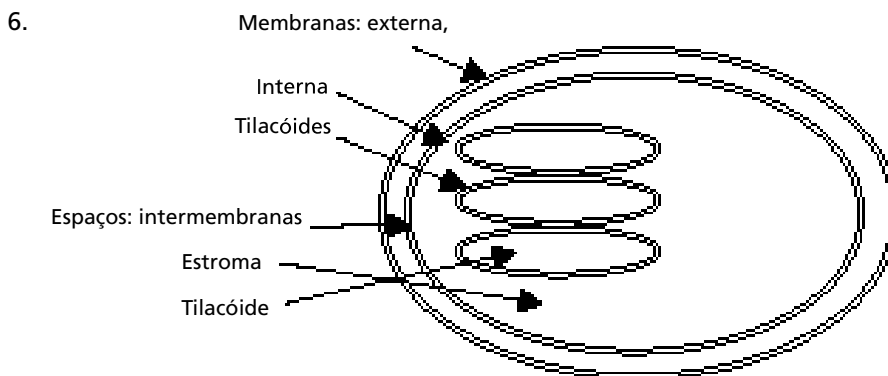
3. As mitocôndrias, pois essas existem todos os tipos de eucariontes (animais, vegetais e fungos), enquanto os cloroplastos só existem nos vegetais.

4. Estruturas presentes na semente que possuem dupla membrana e ácidos nucléicos. Podem se diferenciar em cloroplastos ou outros tipos de plastídeos.

5. Leucoplastos - São plastos de conteúdo branco,

Elaioplastos - Também chamados oleoplastos, são plastos que armazenam óleos;

Amiloplastos - São um tipo de leucoplasto, armazenando amido, podem ter origem em um cloroplasto que acumulou amido em seu estroma; Etioplastos- são proplastídeos que começam a se desenvolver na ausência de luz, formando membranas paracristalinas. Se receberem iluminação apropriada, se transformarão em cloroplastos.



7. Além do ciclo de fixação do carbono, a síntese de lipídeos e o armazenamento de amido.

8. A fase dependente de luz da fotossíntese, quando são produzidas moléculas energéticas que serão utilizadas no ciclo de fixação do carbono.

Aula 29

1. Reações de transferência de elétrons - nas membranas tilacóide.

Ciclo de fixação do carbono - no estroma.

2. É um agrupamento de clorofilas e outros pigmentos que se dispõe em torno do centro de reação fotoquímica, onde há um par de clorofilas especiais associadas a citocromos e transportadores de elétrons.

3. Não, porque as reações desse ciclo ocorrem otimamente num pH em torno de 8,0, o que só é atingido quando os H^+ do estroma estão sendo concentrados no espaço tilacóide, o que só ocorre na presença de luz.

4. Os H^+ acumulados no espaço tilacóide passam, a favor do gradiente eletroquímico, através do complexo protéico CF_0/CF_1 , girando a subunidade CF_1 e catalisando a síntese de ATP a partir de ADP e P_i .

5. É a quebra da molécula de água num complexo enzimático do cloroplasto em O_2 (vai para a atmosfera), H^+ (vai para o espaço tilacóide) e e^- (vão substituir o elétron de alta energia que vai percorrer a cadeia de citocromos).

6. É o apelido da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase, responsável pela adição de C do CO_2 a ribulose 1,5-bifosfato, gerando um composto intermediário de seis carbonos que vai dar origem a duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato.

7. É a reação que a rubisco catalisa consumindo ATP e O_2 e produzindo CO_2 . Ocorre quando a concentração de O_2 no mesófilo aumenta muito. É o inverso da fixação do carbono.

8. São plantas de clima quente e seco, que mantêm seus estômatos fechados a maior parte do dia e, para evitar a fotorrespiração, fazem a fixação do carbono apenas nas células da bainha do feixe e por uma via em que ao invés de gliceraldeído 3-fosfato, o CO_2 é fixado numa molécula de quatro carbonos.

Aula 30

1. Porque seu metabolismo produz peróxido de hidrogênio, ou água oxigenada, que é depois degradado pela catalase.
2. Peroxissomos não possuem DNA, são envoltos por apenas uma membrana e não produzem ATP e NADH.H^+ .
3. Porque outras organelas como glicossomos e glioxissomos também são consideradas peroxissomos.
4. Detoxificação, metabolismo de lipídeos, síntese de plasmalogênios, gliconeogênese nas sementes.

ISBN 85-7648-029-8



9 788576 448029 7



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério
da Educação

