

Módulos 1, 2 e 3

Volume único

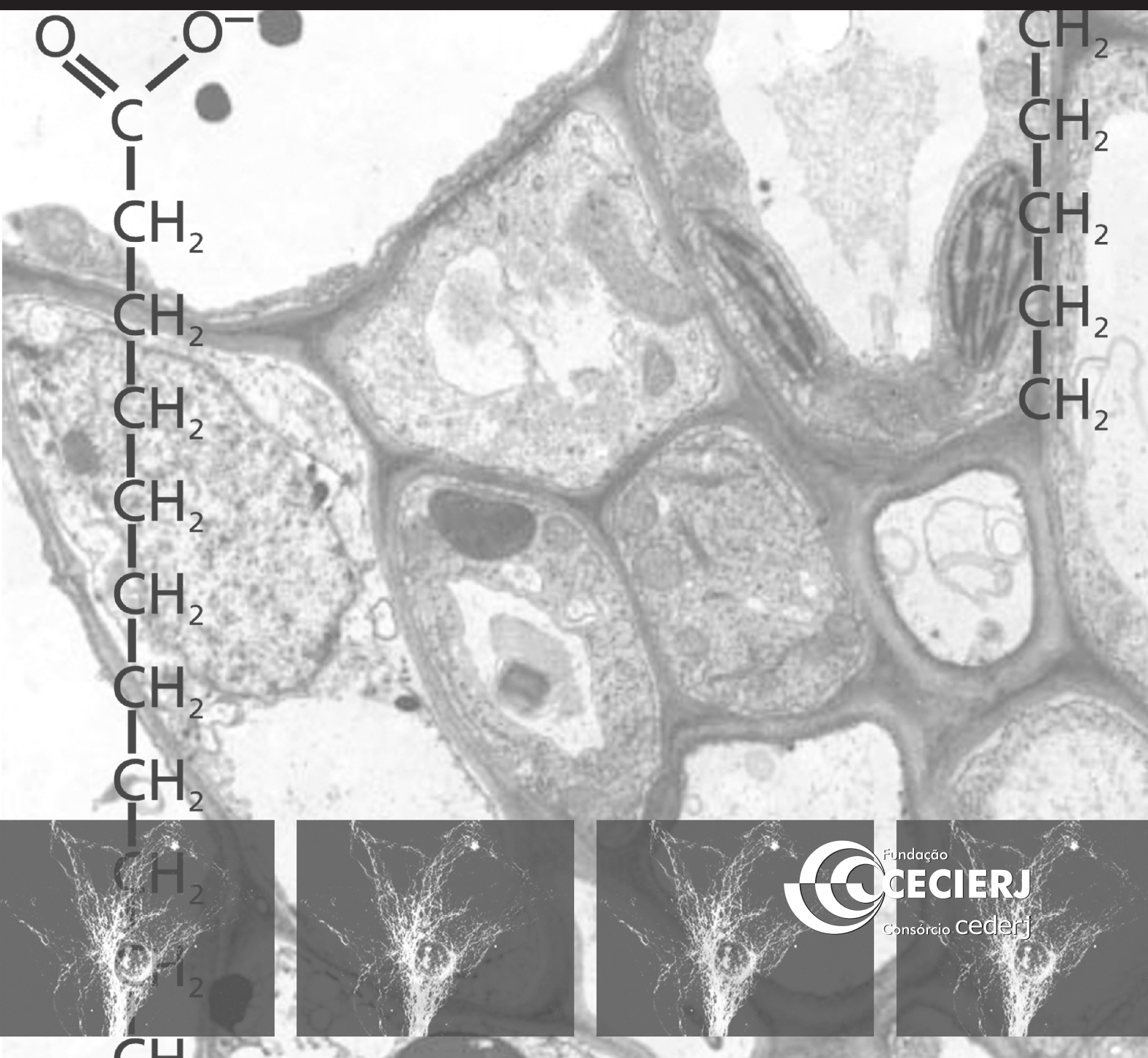
Bruno Azevedo

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva

Prescilla Emy Nagao

Biologia Celular II



Fundação
CECIERJ
Consórcio cederj



Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

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

Biologia Celular II

Volume único - Módulos 1, 2 e 3

Bruno Azevedo

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva

Prescilla Emy Nagao



**GOVERNO DO
Rio de Janeiro**

**SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA**



**Ministério
da Educação**



Apoio:



Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

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

Tel.: (21) 2334-1569 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 - Cibebe Schwanke

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Bruno Azevedo

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva

Prescilla Emy Nagao

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves

Ana Tereza de Andrade

Janete Silveira Pinto

COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Maria Angélica Alves

REVISÃO TÉCNICA

Marta Abdala

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Kátia Ferreira dos Santos

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Renata Borges

Sanny Reis

ILUSTRAÇÃO

Equipe CEDERJ

CAPA

Jefferson Caçador

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.

A994b

Azevedo, Bruno.

Biologia celular II. v. único / Bruno Azevedo et al. – Rio de Janeiro : Fundação CECIERJ, 2009.

261p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-7648-134-0

1. Ciclo celular. 2. Núcleo interfásico. 3. Funções celulares. 4. Matriz extracelular. 5. Célula nervosa. 6. Célula muscular. 7. Células-tronco. 8. Célula apoptótica. I. Attias, Márcia. II. Silva, Narcisa Cunha e. III. Nagao, Prescilla Emy. IV. Título.

CDD: 571.6

2009/1

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 Vieir Alves

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 1

Aula 1 -	O ciclo celular _____	7
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 2 -	A célula em divisão _____	25
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 3 -	Núcleo interfásico _____	41
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 4 -	Transporte núcleo-citoplasma _____	59
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	

Módulo 2

Aula 5 -	Junções celulares 1: Junções ocludentes _____	77
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Prescilla Emy Nagao</i>	
Aula 6 -	Junções celulares 2: Junções ancoradoras e junções comunicantes ____	89
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Prescilla Emy Nagao</i>	
Aula 7 -	Matriz extracelular _____	107
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Prescilla Emy Nagao</i>	
Aula 8 -	Matriz extracelular: as proteínas da matriz _____	119
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Prescilla Emy Nagao</i>	
Aula 9 -	Parede celular _____	135
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	

Módulo 3

Aula 10 -	A célula nervosa _____	145
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 11 -	A célula muscular _____	163
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 12 -	As células-tronco _____	187
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 13 -	A célula apoptótica _____	209
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Bruno Azevedo</i>	
Aula 14 -	A célula cancerosa _____	233
	<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva / Bruno Azevedo</i>	
Gabarito	_____	247

O ciclo celular

AULA

1

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Definir o que é ciclo celular.
- Listar e caracterizar as quatro fases que compõem o ciclo celular.
- Descrever o mecanismo básico de controle do ciclo pelas ciclinas e quinases associadas a ciclinas (Cdks).
- Conceituar o que são e onde se situam os pontos de checagem.
- Relacionar a proteína *p53* ao surgimento de tumores malignos.
- Conceituar G_0 .

Pré-requisito

Sinalização celular
(Aulas 13 e 14
de Biologia Celular I)

INTRODUÇÃO

O ciclo celular, que você estudará agora do ponto de vista celular, já foi estudado na disciplina Genética.

Ao longo de toda a vida de um organismo, mesmo depois de terminado o período de crescimento, várias de suas células continuarão se dividindo, seja para renovação de tecidos, como o epitélio intestinal e as células sangüíneas, seja para reparo de lesões, como um corte na pele ou a fratura de um osso.

A etapa de **divisão celular**, que você estudará na Aula 2, compreende a **mitose**, na qual o DNA é dividido em duas cópias idênticas, e a **citocinese**, quando a membrana plasmática se estrangula, dividindo o citoplasma, suas organelas e estruturas, entre as células-filhas. Cada célula-filha entra então no período de **intérfase**. O nome intérfase induz à idéia de que esse período é apenas o intervalo entre duas divisões celulares. Quando os períodos do ciclo celular foram denominados, os pesquisadores realmente consideravam a intérfase apenas como o intervalo entre duas divisões, porque eram as divisões celulares que mais chamavam a atenção, eram mais fáceis de observar, por isso mais estudadas. Com o tempo, ficou claro que é durante a intérfase que a célula desempenha todas as suas funções. Nesse período, ocorre a síntese de componentes celulares citoplasmáticos e a duplicação do DNA. Uma divisão é sempre precedida de uma intérfase e após a intérfase muitas vezes sobrevém uma divisão. Essa é, em essência, a dinâmica do **ciclo celular** (Figura 1.1).

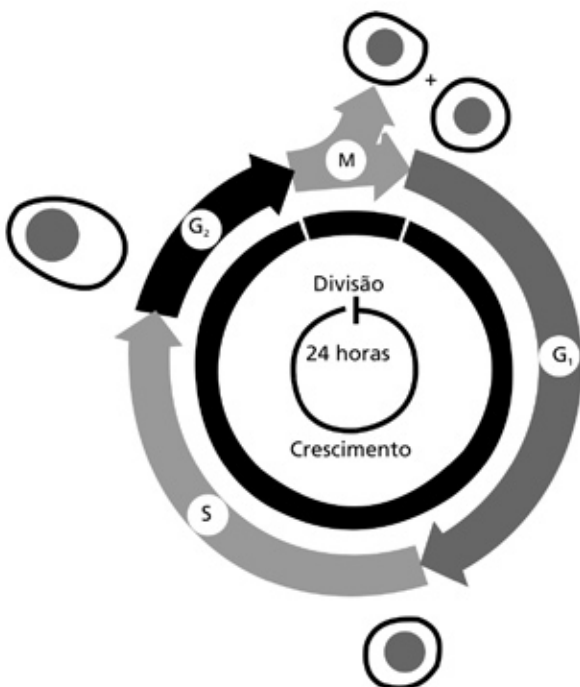


Figura 1.1: O ciclo celular de uma célula de mamífero dura, em média, 24 horas, e é composto por um período de crescimento e uma divisão. A célula leva cerca de uma hora para se dividir. O período de síntese inclui uma fase de crescimento (G₁), a duplicação do DNA (S) e um segundo período de crescimento (G₂).

AS FASES DO CICLO CELULAR

A **Figura 1.1** sintetiza as principais características do ciclo celular de uma célula de mamífero típica. A fase **M**, ou de divisão celular, em geral dura apenas cerca de uma hora, mas é muito impactante, pois *vemos* ao microscópio óptico, em tempo real, a condensação e movimentação dos cromossomos, a separação das células-filhas etc. (peça ao tutor para mostrar a você algumas animações na Internet). Já na intérfase, que corresponde às restantes 23 horas do ciclo, a simples observação ao microscópio óptico não dá nenhuma indicação da intensa atividade que ocorre nesse período.

A intérfase compreende três fases: G_1 , S e G_2 . As fases G_1 e G_2 correspondem a intervalos (G de *gap*, espaço em inglês) onde a célula cresce para recuperar o volume que a célula-mãe tinha antes da divisão. Nesse período, são sintetizadas membranas para o complexo de Golgi, o retículo e para incorporação à membrana plasmática. Além disso, organelas celulares como mitocôndrias crescem e se clivam. Sem esse acréscimo de volume, a cada divisão, as células-filhas seriam menores (veja a Figura 1.3). Na fase S (de Síntese), o DNA é duplicado. Como você pode perceber, a mitose só se inicia depois de garantida a *herança* que cada célula-filha vai receber. Nisso consiste a beleza do ciclo celular: cada fase só tem início depois de cumprida a *tarefa* anterior. Isso evita que sejam produzidas células onde possa estar faltando alguma parte do genoma. De forma análoga, a célula não consegue formar membrana plasmática, retículo ou Golgi, a não ser pela incorporação de elementos à estrutura preexistente. Assim, cada célula-filha precisa *herdar* parte do Golgi, do retículo e também mitocôndrias da célula-mãe.

Num organismo adulto, cada tipo celular tem o ciclo com uma duração diferente, desde algumas horas, até anos. Nesses ciclos, o que tem duração variável é a fase G_1 . As fases S e M têm duração aproximadamente constante em cada organismo. A fase M, especialmente, é curta, durando cerca de uma hora. Veja a comparação da duração do ciclo em diferentes tipos celulares na **Figura 1.2**.

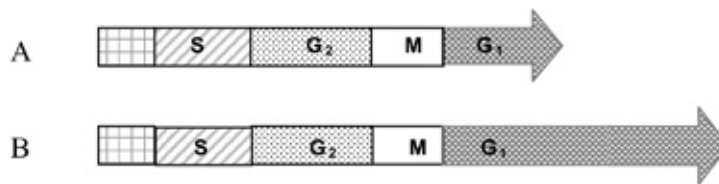


Figura 1.2: Em A, a representação do ciclo celular de uma célula epitelial; em B, de um hepatócito. Embora células epiteliais se dividam a cada 24 horas, aproximadamente, e células hepáticas apenas uma vez a cada dois anos, o tempo gasto pelos diferentes tipos celulares nas fases S, G₂ e M é aproximadamente igual. O que varia é a duração de G₁.

Multiplicação sem crescimento. Será que pode?

No início do desenvolvimento embrionário, o zigoto, ou célula-ovo, sofre ciclos sucessivos de mitose em que as células-filhas são cada vez menores. Nessa fase, diz-se que o ovo está sofrendo clivagem e, embora o número de células aumente, o volume do embrião é quase igual ao da célula inicial (**Figura 1.3**). Esta é uma situação especial em que o ciclo celular é uma sucessão de fases S e M, sem parar em G₁ e G₂. Isso acontece porque a célula-ovo tem, quando comparada às células do indivíduo adulto, um grande volume citoplasmático, e nesse citoplasma há um *estoque* das moléculas necessárias, o que permite que a célula se divida muitas vezes sem precisar esperar que essas moléculas sejam sintetizadas *de novo* durante a intérfase. Em consequência disso, as divisões são rápidas, mas o volume das células-filhas vai diminuindo, embora o do núcleo permaneça constante. Num determinado momento, o estoque citoplasmático de moléculas acaba ficando abaixo do necessário para disparar a duplicação do DNA e a mitose. A partir daí, nas etapas seguintes do desenvolvimento, essas células continuarão não apenas a se dividir, mas começarão a se diferenciar nos diversos folhetos e anexos embrionários.

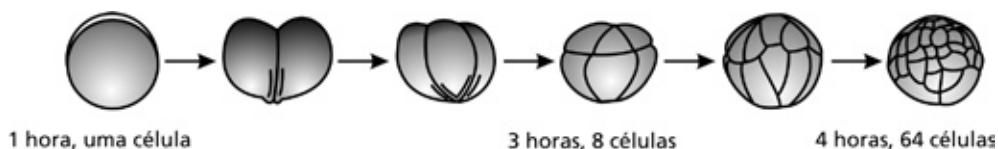


Figura 1.3: No início de seu desenvolvimento, o zigoto sofre sucessivas clivagens, um tipo de ciclo celular no qual a intérfase é curta e não ocorre crescimento das células-filhas.

CONTROLE DO CICLO CELULAR

Mesmo para um leigo, as imagens de uma célula em divisão são sempre surpreendentes: a sincronia do afastamento dos cromossomos na anáfase, o estrangulamento que separa as células-filhas, a recomposição do envoltório nuclear, tudo parece orquestrado como num teatro onde fios invisíveis coordenam os movimentos dos bonecos, no caso, as células.

Essa sequência ordenada de eventos não se restringe à mitose, ela é característica de todo o ciclo celular: o DNA só vai se duplicar após a fase de síntese e crescimento celular, e a mitose só se inicia se o DNA estiver duplicado e a célula tiver o tamanho correto. Concluindo: o disparo de cada etapa do ciclo celular é feito durante a etapa anterior. É como o ciclo de uma máquina de lavar: encher → lavar → enxaguar → centrifugar. A máquina possui sensores para medir o nível de água, temporizadores para que cada etapa dure apenas o necessário... Mas e na célula? Quais são os sensores que liberam a etapa seguinte?

Esse mistério começou a ser elucidado a partir de experimentos com ovócitos de sapo (*Xenopus*). Como já comentamos na **Figura 1.3**, o zigoto dos animais normalmente é uma célula grande, e no caso do *Xenopus* (**Figura 1.4**) mede mais de 1mm!

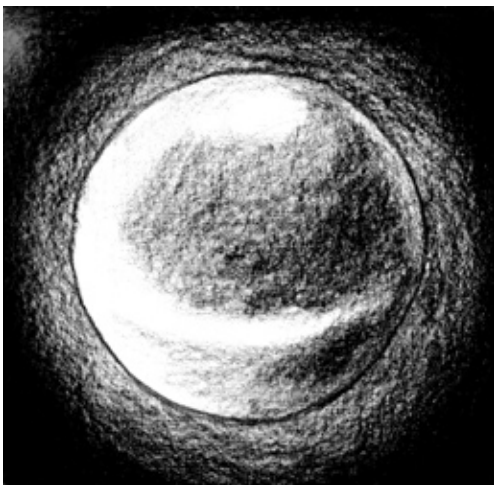


Figura 1.4: O ovócito de *Xenopus* mede mais de 1mm. (Foto de Tony Mills, publicada em *Molecular Biology of the Cell*, Garland Pub. Co.)

Quinases

São enzimas que catalisam uma reação em que uma outra proteína é fosforilada, isto é, um fosfato vindo do ATP liga-se a um de seus aminoácidos. Essa reação pode ser rapidamente revertida pela ação de um outro tipo de enzima – as **fosfatases**. A adição ou remoção de grupos fosfato é uma das maneiras mais frequentes de ativação e inativação de moléculas (Aulas 13 e 14 de Biologia Celular I).

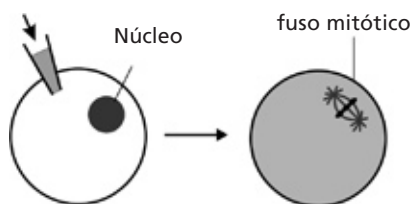
CONTROLE INTERNO DO CICLO

A princípio, acreditava-se que o controle do ciclo celular estava no núcleo das células, mas um experimento crucial demonstrou que o controle é exercido por moléculas do citoplasma.

O experimento consistia em retirar com uma agulha bem fina uma porção do citoplasma de um ovócito fecundado (zigoto) e injetar o conteúdo em um ovócito não fecundado (**Figura 1.5**). Pois bem, a célula que recebia esse extrato citoplasmático entrava imediatamente em mitose (embora fosse haplóide!). Injetando-se o extrato citoplasmático de uma célula na fase G_2 , não produzia nenhum efeito no ovócito. Concluiu-se, então, que no citoplasma do zigoto havia um **fator promotor de mitose** ou **MPF** (de *M-phase promoting factor*).

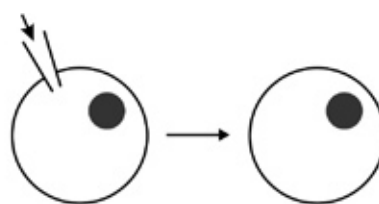
Quando o MPF foi purificado, constatou-se que ele continha uma única enzima: uma proteína quinase (veja o box). Ao fosforilar proteínas-chave, eventos característicos da mitose como a condensação dos cromossomos, desagregação do envoltório nuclear e outros eram disparados.

Injeção de extrato de citoplasma de zigoto na fase M



Ovócito inicia mitose

Injeção de extrato de citoplasma de célula em intérfase



Ovócito não se divide

Figura 1.5: Demonstração experimental da presença do fator de promoção de mitose. Apenas o extrato do citoplasma de células na fase M é capaz de induzir a divisão de um ovócito não fecundado.

Um fato intrigante é que essas quinases estavam presentes no ovo de *Xenopus* em todas as fases do ciclo celular, enquanto a ativação do MPF era cíclica (Figura 1.6). Como poderiam essas quinases estarem ativadas apenas em determinado momento?

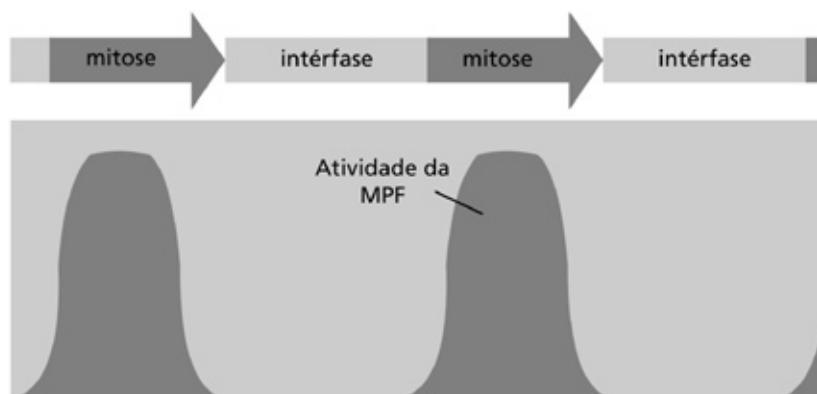


Figura 1.6: Após injeção do extrato citoplasmático de *Xenopus*, a atividade da MPF aumenta rapidamente, caindo abruptamente ao final da mitose.

Essa pergunta não foi respondida através de experimentos feitos com ovos de *Xenopus* e sim ovos de mariscos. Nesses organismos, foram detectadas proteínas cuja concentração ia aumentando gradativamente durante a fase S, caindo abruptamente quando a célula entrava na fase M (Figura 1.7). Essas proteínas foram batizada de **ciclínas**.

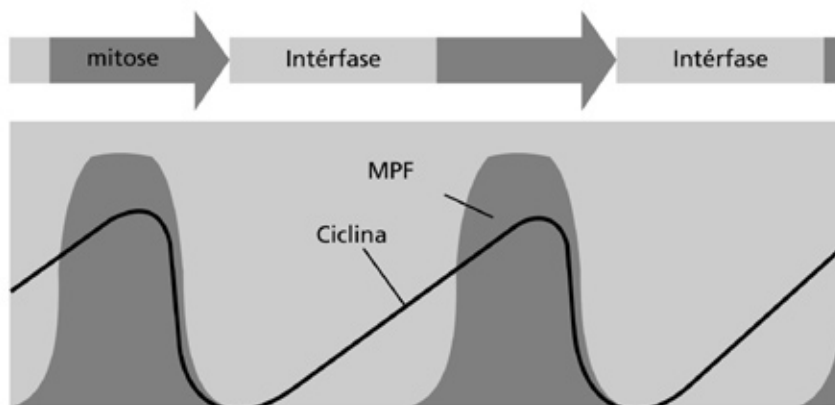


Figura 1.7: A concentração citoplasmática da ciclina disparadora da mitose aumenta gradativamente durante a intérfase, caindo abruptamente ao final da mitose. A concentração da quinase promotora da mitose é constante ao longo de todo o ciclo celular, apenas sua atividade varia.

Concluiu-se assim que o MPF é, na verdade, um complexo de proteínas: uma ciclina e uma quinase dependente dela, ou **Cdk** (*cyclin dependent kinase*) (**Figura 1.8**). Após a descoberta da ciclina e da Cdk disparadoras da mitose – M-ciclina e M-Cdk – foram identificadas outras ciclinas (e respectivas Cdk) disparadoras de outros eventos do ciclo celular. Assim, embora as Cdk estejam presentes o tempo todo, sua atividade é regulada pela presença, ou não, da ciclina que a ativa.

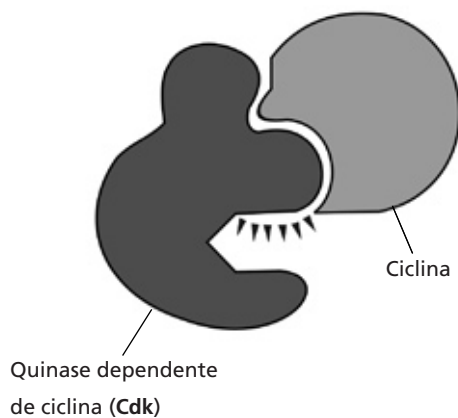


Figura 1.8: Para que determinada fase do ciclo celular se inicie, é necessária a ativação da Cdk por uma ciclina específica. A Cdk ativa, por sua vez, vai fosforilar outras moléculas e provocar mudanças na célula, como a condensação dos cromossomos, a formação do fuso mitótico etc.

Também ficou mais clara a dinâmica de ativação das Cdk: as ciclinas da mitose, por exemplo, começam a ser sintetizadas no início da fase G_1 . Sua concentração citoplasmática vai aumentando até atingir a *concentração reativa*. Isso ocorre imediatamente antes de a célula entrar na fase M. Nesse intervalo, a célula estará cumprindo o roteiro de atividades das fases G_1 (crescimento), S (duplicação do DNA) e G_2 (crescimento), sempre pela ativação de Cdk específicas dessas etapas, que vão sendo ativadas por ciclinas cuja concentração reativa é alcançada primeiro.

CONTROLE EXTERNO DO CICLO: A ORDEM DOS FATORES ALTERA O PRODUTO

Um ponto fundamental para o ciclo celular *dar certo* é que cada evento só seja iniciado quando for concluída a fase anterior (o mesmo princípio da correta lavagem de roupas: nada de enxaguar antes de ensaboar). Não é difícil prever as consequências desastrosas de entrar em mitose antes de concluída a duplicação do DNA, ou da entrada na fase S sem que a célula tenha crescido o suficiente. Por isso, ao longo

do ciclo celular existem diversos **pontos de checagem**. Para passar à etapa seguinte, cada item da etapa anterior é checado e, se não estiver cumprido, o ciclo celular não avança. Veja na **Figura 1.9** quais são esses pontos de checagem.

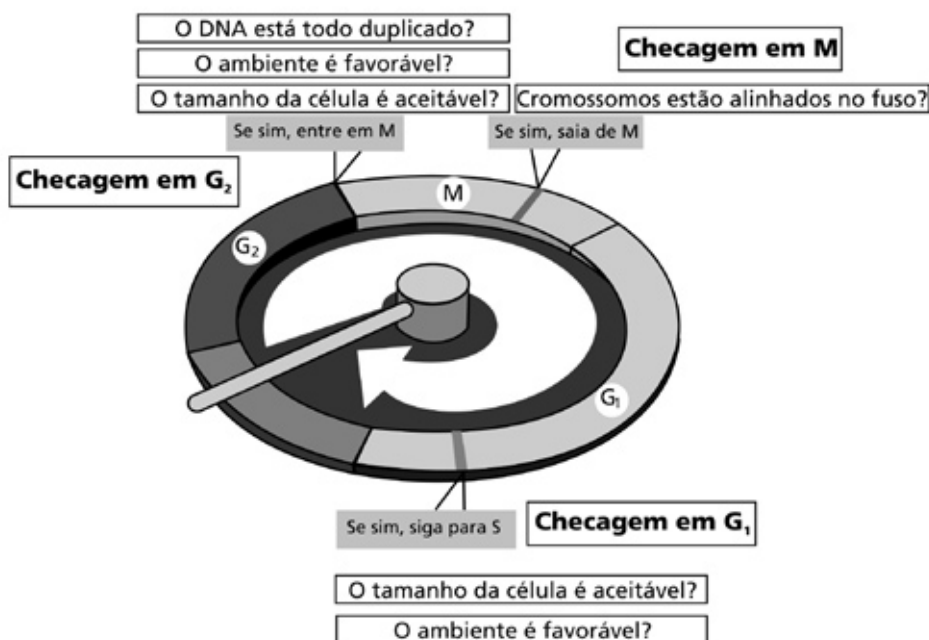


Figura 1.9: Ao longo do ciclo celular existem três pontos de checagem: em G₁, G₂ e em M. Em cada um desses pontos, são checados os itens correspondentes às perguntas contidas nas caixas. Se todos estiverem corretos, a célula passa à etapa seguinte, cumprindo a “ordem” inserida na caixa sombreada.

Uma célula pode ficar muito tempo em G₁ se não houver nutrientes suficientes para manter um número maior de células. Do mesmo modo, a disponibilidade de espaço também limita a proliferação celular. Além disso, mesmo com nutrientes e espaço suficientes, as células não se dividem se não receberem de outras a *informação* de que devem se dividir. Esta informação vem na forma de moléculas sinalizadoras chamadas **fatores de crescimento**, detectadas por receptores de superfície. O somatório de sinais, que engloba os nutrientes, o espaço disponível e os fatores de crescimento, constitui a resposta para a pergunta “O ambiente é favorável?” feita na checagem de G₁.

Em G₁ a célula precisa crescer para recuperar o volume perdido ao ter o citoplasma dividido entre as células-filhas. Esse crescimento, naturalmente, depende de um ambiente favorável para a obtenção de

nutrientes, de temperatura e pH adequados à realização dos processos metabólicos. Não se sabe como a célula consegue calcular que o volume do citoplasma em relação ao núcleo atingiu a proporção correta, mas quando isso acontece a célula fica liberada para entrar na fase S, de síntese do DNA.

A decisão de entrar na fase S da intérfase é conhecida como ponto de *Start*, pois inicia um processo que é irreversível a partir desse ponto. Depois que uma célula inicia a duplicação do genoma, terá de se dividir ou morrer.

O segundo ponto de checagem está em G_2 . Aí o tamanho e o ambiente são novamente conferidos. Embora o maior crescimento ocorra em G_1 , a célula pode crescer mais um pouco em G_2 . Entretanto, o ponto mais importante a ser conferido é se o DNA está total e corretamente duplicado. Nesse ponto, várias anomalias genéticas, como mutações e deleções, podem ser detectadas e corrigidas, ou as células defeituosas podem ser eliminadas. Uma falha nesse ponto pode levar ao desenvolvimento de tumores malignos.

A *última chance* de eliminar uma célula defeituosa é no ponto de checagem que antecede a saída da fase M. Enquanto todos os cromossomos não estiverem alinhados na placa metafásica, a divisão celular não prossegue para a anáfase e para a citocinese (separação das células-filhas). Isso visa a garantir que cada célula-filha receberá uma cópia exata do genoma da célula-mãe.

CICLINAS E CDKS: É PRECISO ALGO MAIS

Já compreendemos que a célula entrará na fase M quando a M-Cdk formar um complexo com a M-ciclina, cuja concentração citoplasmática aumenta gradativamente a partir de G_1 . Para garantir que a M-Cdk não comece a fosforilar as proteínas da fase M antes da hora, o complexo M-ciclina-M-Cdk é inicialmente inativo. Para que a Cdk se torne ativa, precisa ser fosforilada. Duas quinases fosforilam a M-Cdk. Uma fosforila um sítio que inibe a atividade da M-Cdk, a outra fosforila o sítio de ativação da enzima. Assim, o complexo só se tornará ativo depois de ter um desses fosfatos (o inibidor) removido pela ação de uma fosfatase. A partir daí, o complexo ciclina-Cdk (ou MPF) se torna ativo e é capaz de catalisar inclusive a ativação dos complexos ainda inativos (Figura 1.10).

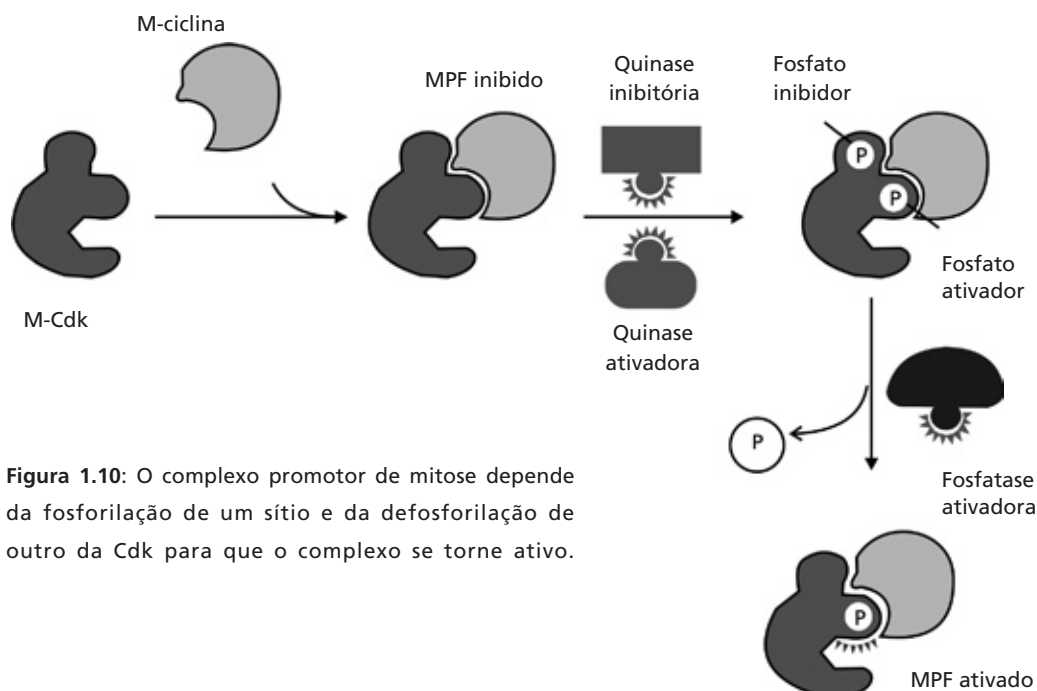


Figura 1.10: O complexo promotor de mitose depende da fosforilação de um sítio e da defosforilação de outro da Cdk para que o complexo se torne ativo.

“VOCÊ É UM HOMEM OU UM COGUMELO?”

(*O pequeno príncipe* – Antoine de Saint-Éxupéry)

Enquanto o ciclo celular era estudado em ovos de sapos e mariscos, as leveduras, formas unicelulares de alguns fungos (como o fermento de pão), foram escolhidas como célula eucariótica modelo para estudar os genes que controlam o ciclo celular. Apesar de serem células eucarióticas, as leveduras levam quase o mesmo tempo que uma bactéria para se duplicar. Seu ciclo celular todo leva cerca de uma hora. Associado a isso, foram produzidas muitas formas mutantes de leveduras que interrompiam o ciclo celular em diferentes pontos, permitindo identificar que genes estavam envolvidos. Isso permitiu concluir que, do ponto de vista evolutivo, o ciclo celular é um evento extremamente conservado. Os mesmos genes que controlam o ciclo em um simples fungo também estão presentes em seres complexos como os mamíferos, ou seja, eu, você e todos nós!



Afinal, o que as Cdks fosforilam?

As Cdks de cada etapa do ciclo celular catalisam a fosforilação de diferentes proteínas com diferentes resultados. A M-Cdk, por exemplo, atua, entre outras, sobre as seguintes proteínas (que são, claro, seus substratos):

- catalisa a fosforilação das laminas, filamentos intermediários que formam uma rede que reveste o envoltório nuclear (Aula 22 de Biologia Celular I e Aula 3 de Biologia Celular II). As laminas fosforiladas despolimerizam, provocando a fragmentação da lâmina nuclear e a vesiculação (e *desaparecimento*) do envoltório nuclear.
- A fosforilação de uma outra proteína, a condensina, promoverá a condensação dos cromossomos observada na mitose (Aula 2).
- A fosforilação de proteínas associadas aos microtúbulos também promoverá sua reorganização para formar o fuso mitótico (Aula 2).

Cada etapa do ciclo depende de ciclinas diferentes

O disparo de cada etapa do ciclo celular depende da ativação de complexos ciclina-Cdk específicos daquela etapa (Figura 1.11).

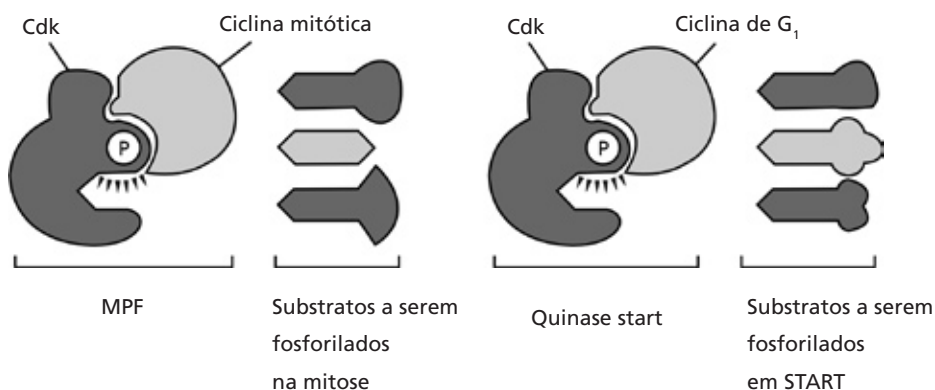


Figura 1.11: Cada complexo ciclina-Cdk é capaz de fosforilar várias proteínas (substratos) relativas àquela fase.

Em contrapartida, uma vez encerrada aquela etapa, como é interrompida a atividade dessas quinases? Respondeu certo quem se lembrou do mecanismo de degradação de proteínas em proteassomas, estudado na Aula 18 de Biologia Celular I. Ao fim de cada etapa as ciclinas são ubiquitinadas e direcionadas para rápida destruição nos proteassomas (Figura 1.12).

Os substratos do MPF, como as laminas, as condensinas, as proteínas associadas a microtúbulos etc., que tinham sido fosforilados no início da fase M, serão defosforilados no final dessa fase por fosfatases que são ativadas ainda pelo próprio MPF, imediatamente antes da degradação das ciclinas.

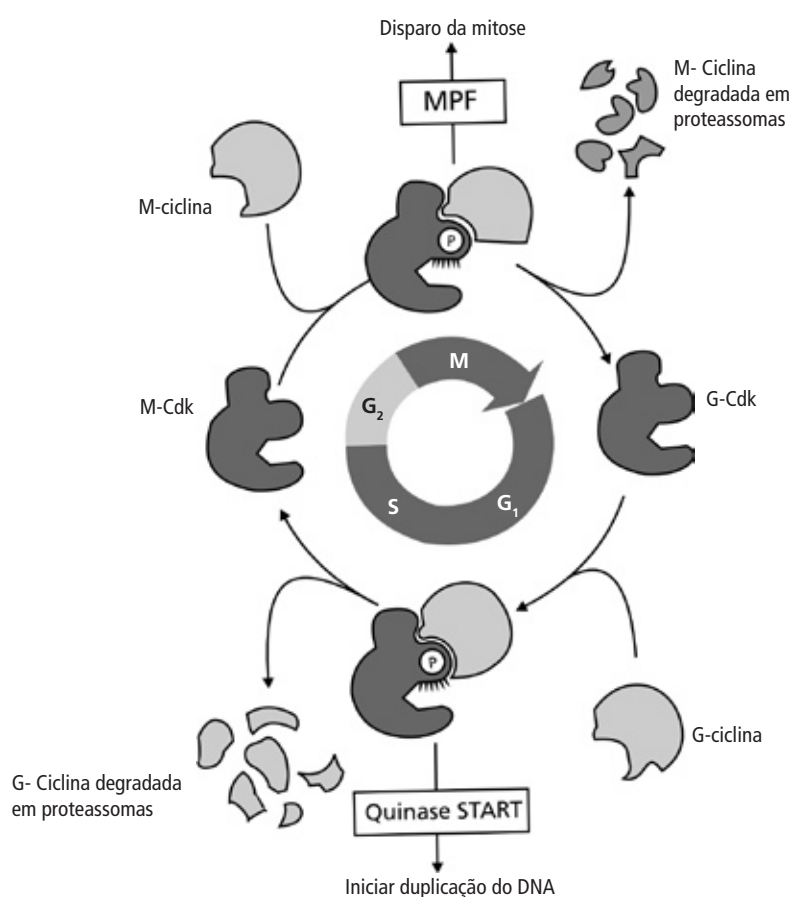


Figura 1.12: Em cada etapa do ciclo celular, diferentes Cdks são ativadas por ciclinas específicas. Fim da etapa, as ciclinas são destruídas em proteassomas. No esquema, estão representados apenas a ativação da duplicação do DNA e o disparo da divisão celular.

Desastre à vista? O ciclo celular pode ser interrompido

Que o ciclo celular é constituído de etapas (G_1 , S, G_2 e M), você já sabe. Que cada uma dessas etapas é disparada pela formação de complexos **ciclina-Cdk**, você também já sabe. Que cada etapa é regulada pela etapa anterior, onde existem **pontos de checagem**, também já foi comentado.

Agora, como é que o processo pode ser interrompido, caso em algum ponto de checagem a célula não *passe na vistoria*?

Em cada ponto de checagem existem *freios* moleculares capazes de impedir o prosseguimento do ciclo. Porém, a maioria dessas moléculas é pouco conhecida, ou mesmo desconhecida. Uma exceção são as **proteínas inibidoras de Cdks**, que bloqueiam a formação ou a atividade de complexos ciclina-Cdk.

No ponto de checagem de G_1 , danos na estrutura do DNA induzem o aumento da concentração e da atividade da **p53**, proteína reguladora da atividade gênica. Quando ativa, a **p53** estimula a transcrição de um gene que codifica a **p21**, uma proteína inibidora de Cdk. A proteína **p21**

se liga aos complexos ciclina-Cdk da fase S, responsáveis por levar a célula à fase S, bloqueando sua ação (Figura 1.13). A parada na fase G_1 dá oportunidade à célula de reparar seu DNA antes de replicá-lo. Mutações na **p53** são incapazes de impedir a replicação de DNA lesado. Não é portanto surpreendente que diversos tipos de células tumorais possuam mutações no gene que codifica essa proteína, o que evidencia sua relação com o desenvolvimento de câncer.

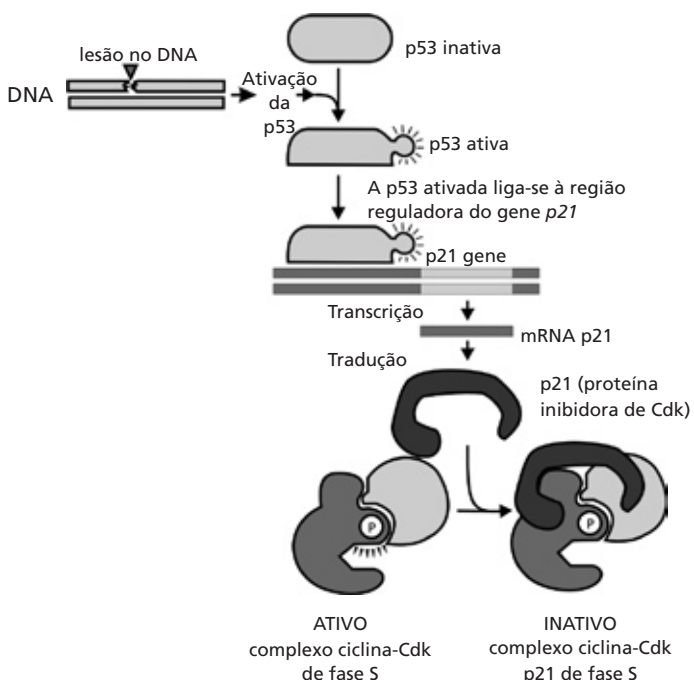


Figura 1.13: Mecanismo de inibição da atividade do complexo ciclina-Cdk provocado por uma lesão no DNA.

Dividir ou não dividir, eis a questão

A partir do estágio de oito células, já têm início os processos de diferenciação celular de um embrião. Algumas irão constituir os anexos (placenta, saco amniótico e saco vitelínico), outras farão parte dos folhetos embrionários. Nessa etapa, todas as células se dividem intensamente. No indivíduo adulto, alguns tecidos, como a pele, o sangue e os ossos, renovam-se constantemente. Isso implica a permanência, na idade adulta, de linhagens de células capazes de se dividir e se diferenciar nos diferentes tipos celulares encontrados nesses tecidos – as células-tronco, assunto de uma outra aula nesta disciplina. No epitélio intestinal, as células se dividem a cada 24 horas, aproximadamente. Já no fígado, que é tido como um órgão com grande capacidade de regeneração, os hepatócitos se dividem, em condições de normalidade, apenas uma vez por ano! Células com grau ainda maior de especialização, como os neurônios e as células musculares, em princípio não se dividem. Via de regra, quanto mais especializada a célula, menor a frequência com que ela entra em divisão.

Uma célula que não mais se dividirá, como os neurônios e as células musculares, *abandona* o ciclo celular durante a fase G_1 e entra num estado particular, denominado G_0 ou **quiescência**.

Uma célula pode permanecer no estado G_0 por tempo indefinido. No caso dos neurônios, para sempre. Nos hepatócitos, o período G_0 pode atingir dois anos, mas eles continuam podendo voltar à G_1 e reentrar no ciclo.

Dividir até quando?

Cada tipo celular que compõe um organismo parece já ter uma programação intrínseca de quantas vezes vai se dividir antes de morrer. Tomando como exemplo um fibroblasto humano: se ele for retirado de um embrião e mantido em cultura de células em condições ideais de nutrição e espaço, vai se dividir cerca de 80 vezes; já um fibroblasto humano retirado de um adulto de 40 anos, mantido nas mesmas condições, vai se dividir cerca de 40 vezes apenas. Essa observação coloca em evidência uma possível relação entre o controle do ciclo celular e o envelhecimento e a longevidade.

Procurando o mecanismo de controle do número de divisões que uma célula é capaz de realizar, os achados apontam para a replicação do genoma. A cada replicação, a ponta do cromossomo, o telômero, precisa ser restaurada por uma enzima, a telomerase. Nas células humanas, o gene que codifica a telomerase não é expresso em células somáticas do adulto. Por isso, a cada divisão celular, o telômero fica mais curto, até que não é mais possível replicar o cromossomo corretamente. Células podem se manter nessa situação, denominada **senescência** celular, por longo tempo realizando perfeitamente suas funções antes de morrer.

A manutenção das proporções corporais depende da entrada e saída, no ciclo celular, de cada célula do organismo no momento exato.

Além da velocidade com que as células se dividem, outro fator importante no controle do número de células de um organismo é a *apoptose* ou *morte celular programada*, que será discutida na Aula 14 de Biologia Celular II.

RESUMO

O ciclo celular é constituído por uma intérfase, subdividida em G_1 , S e G_2 , e uma fase de divisão, denominada M.

- O controle interno do ciclo celular é exercido por moléculas citoplasmáticas: as ciclinas, que vão se acumulando em cada fase do ciclo, e as quinases dependentes de ciclina (Cdk), presentes em quantidades constantes por todo o ciclo.
- Quando as ciclinas atingem concentrações reativas numa fase, elas se combinam com as quinases, promovendo a passagem para a próxima fase.
- O complexo formado pela M-Cdk e a M-ciclina se chama MPF e dispara a mitose, fosforilando várias proteínas, dentre elas as que compactam os cromossomos, as que desmontam o envoltório nuclear e as que levam os microtúbulos a formar o fuso mitótico.
- No final de cada fase do ciclo, as ciclinas são degradadas em proteassomas.
- O ciclo celular também tem um controle externo, dado pela disponibilidade de nutrientes, de espaço e de fatores de crescimento.
- Em conjunto, os controles interno e externo formam os pontos de checagem: no final de G_1 , a célula precisa ter o volume suficiente e o ambiente favorável para entrar em S. No final de G_2 , além do ambiente e do volume favoráveis, é preciso que o genoma esteja correta e completamente duplicado. Na metáfase, os cromossomos precisam estar todos alinhados para que a divisão prossiga.
- Células bastante diferenciadas, como neurônios e músculos, escapam do ciclo celular em G_1 e permanecem num estado de quiescência chamado G_0 , a partir do qual podem até voltar ao ciclo em algum momento.

EXERCÍCIOS

1. O que é e quais são as fases que compõem o ciclo celular?
2. O que são ciclinas? Como atuam?
3. O que são Cdk's? Como atuam?
4. O que é MPF?
5. O que acontece com as ciclinas de uma determinada fase do ciclo quando a mesma se encerra?
6. Como é feito o controle externo do ciclo celular?
7. O que são pontos de checagem?
8. O que é G_0 ?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Associar a mitose à distribuição do material genético entre as células-filhas.
- Caracterizar cada uma das fases da mitose.
- Explicar os fenômenos de:
 - condensação dos cromossomos;
 - duplicação dos centrossomos;
 - formação do fuso mitótico;
 - migração dos cromossomos para o equador da célula;
 - formação da placa metafásica;
 - migração dos cromossomos para os pólos;
 - desagregação e reorganização do envoltório nuclear.

Pré-requisito

Microtúbulos (Aula 23 de Biologia Celular I).

INTRODUÇÃO

Na Aula 1, você já estudou que todas as células obedecem a um ciclo celular, período que compreende uma fase em que a célula cresce e reproduz suas estruturas internas e uma outra durante a qual ela se divide.

O período da intérfase compreende três etapas (G₁, S, G₂) e algumas células podem permanecer para sempre em G₁, sem passar à fase de divisão, chamada M.

O ciclo celular dura, em média, de 12 a 24 horas. A fase M dura cerca de 1 hora. Esse é um valor médio, havendo, naturalmente, muitas variações. Cada fase do ciclo celular é **disparada** por Cdk's (do inglês *ciclyn dependent kinases*, ou seja, quinases dependentes de ciclinas). As ciclinas, como já sabemos, são proteínas que, uma vez ativadas (pelas Cdk's), deflagram eventos específicos. A divisão celular ou **mitose** é disparada pela **M-Cdk**. A mitose é um evento bastante complexo, que tem por objetivo distribuir eqüitativamente o material genético, duplicado na fase S, entre as duas células-filhas.

FASES DA MITOSE

A mitose inclui uma seqüência de eventos que, embora nem sempre possam ser claramente delimitados, foram divididos em fases. Provavelmente, esses nomes são seus velhos conhecidos:

1. Prófase
 2. Prometáfase
 3. Metáfase
 4. Anáfase
 5. Telófase
- } citocinese

A **Figura 2.1** mostra o aspecto típico das principais etapas. Entender como e por que as estruturas envolvidas mudam de aspecto ou mesmo desaparecem é o tema central desta aula.

Uma célula em divisão é bastante diferente de uma célula em intérfase em, pelo menos, três características:

- O envoltório nuclear, presente na célula interfásica, desaparece durante a divisão.
- Os cromossomos, que formam uma massa na célula interfásica, se condensam e se individualizam durante a divisão.
- Durante a divisão, os microtúbulos se reorganizam, dando origem ao fuso acromático.

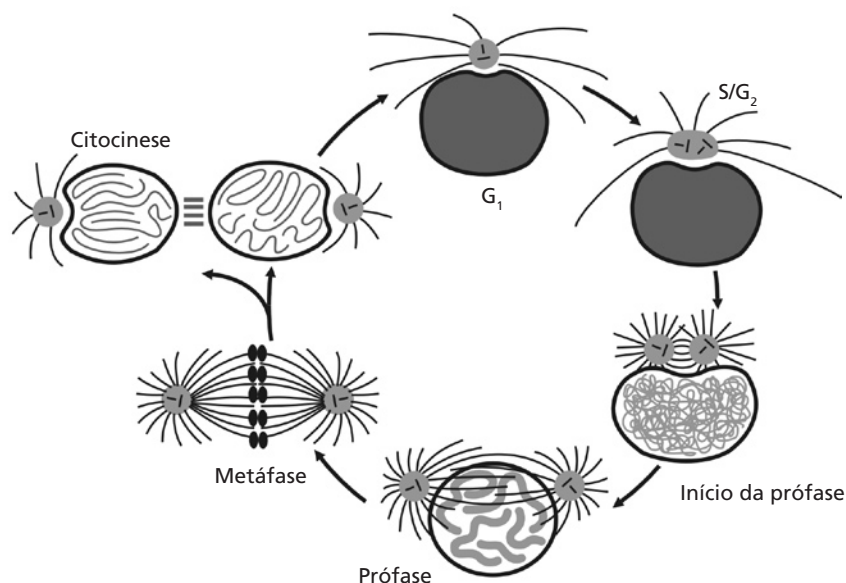


Figura 2.1: Aspecto do núcleo e centríolos nas diferentes fases do ciclo celular. A duplicação dos cromossomos e dos centríolos precede a fase M propriamente dita. Esta tem início com a prófase, em que os cromossomos começam a se condensar, individualizando-se. Na metáfase, cada centríolo ocupa um pólo da célula e dele partem microtúbulos que formam o fuso mitótico. Os cromossomos se encontram alinhados no plano médio da célula, equidistantes dos dois pólos. Na anáfase, o material genético (cromossomos) é dividido igualmente, migrando em sentidos opostos para os dois pólos da célula. A última fase da mitose é a citocinese, ou seja, a separação das duas células-filhas.

E AÍ, CÉLULAS? VAMOS COMEÇAR A NOS DIVIDIR?

As condições necessárias para que a célula entre na fase M são providenciadas durante a intérfase. Nesse período, erroneamente chamado descanso, os cromossomos se duplicam, permanecendo unidos pela região chamada **centrômero** (Figura 2.4).

Também se duplicam nesta fase os **centrissomos**. Você já aprendeu sobre o centrissomo na aula sobre microtúbulos. Eles são o que chamamos centro organizador de microtúbulos, isto é, todos os microtúbulos de uma célula partem daí. Nas células animais, os centrissomos incluem um par de centríolos, cuja estrutura formada por nove trios de microtúbulos é bem característica (Figura 2.2).

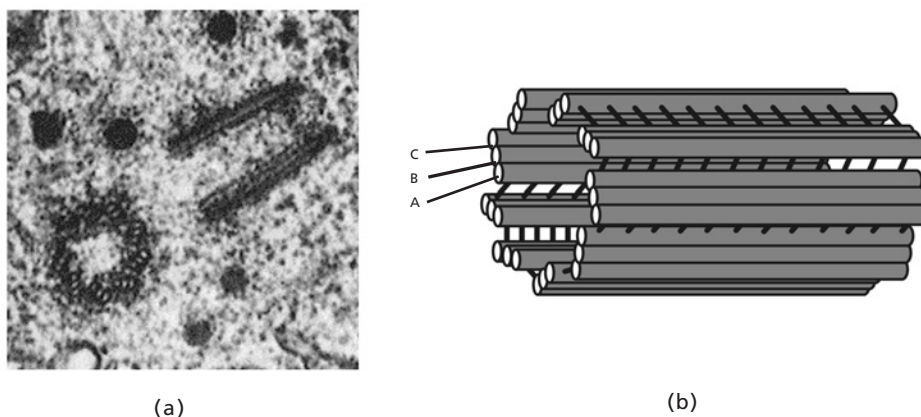


Figura 2.2: (a) Um par de centríolos observado ao microscópio eletrônico. Note que um centríolo sempre está posicionado a 90 graus em relação ao outro. (b) Esquema da estrutura do centríolo composta por nove trios de microtúbulos, designados como A, B e C. Cada centríolo mede cerca de 100nm. (Foto: M., McGill, D.P., Highfield, T.M., Monahari e B.R. Brinkley, *J. Ultrastr. Res.* 57: 43-53,1976).

Os centríolos de um par não são idênticos. Um deles é dominante e possui filamentos que o conectam à **matriz pericentriolar** (de onde partem os microtúbulos). Quando os centríolos de um par vão se duplicar, eles se separam e cada um dá origem (nucleia) a um novo centríolo (Figura 2.3). Os dois pares de centríolos permanecem próximos até o início da prófase.

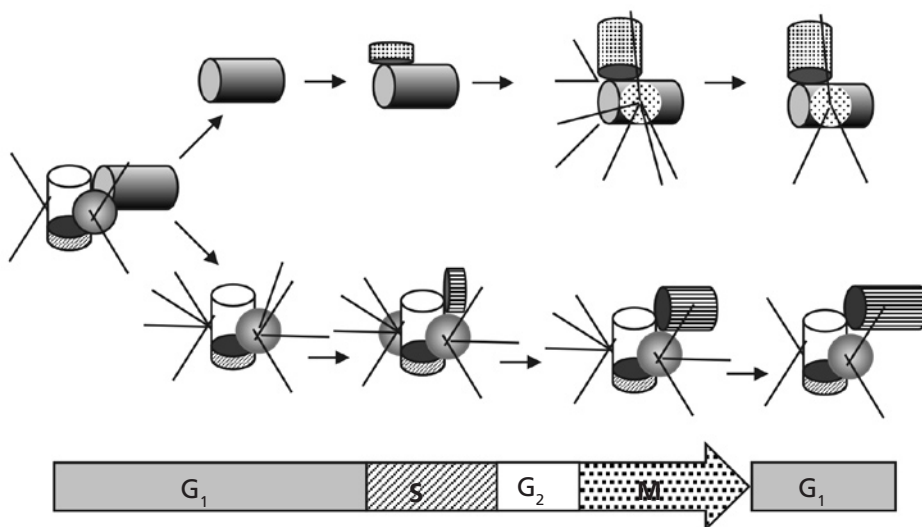


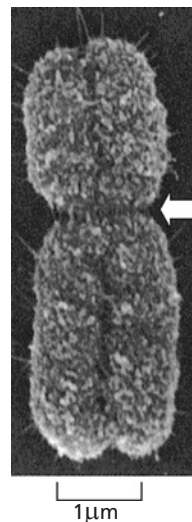
Figura 2.3: Apenas um dos centríolos de um par está ligado à matriz pericentriolar. Na fase S, os centríolos de um par se distanciam e cada um dá origem a um novo centríolo. O centríolo "mais antigo" será sempre o dominante no novo par.

Uma vez que os cromossomos e centrôssomos estejam duplicados, a mitose pode ter início.

PRÓFASE

Na prófase, o envoltório nuclear ainda se encontra intacto. É nesta etapa que os cromossomos duplicados se condensam e assumem sua forma característica de dois bastões, as **cromátides-irmãs**, ligados pelo **centrômero** (Figura 2.4).

Figura 2.4: Cromossomo na forma condensada e duplicada observado ao microscópio eletrônico de varredura. O estrangulamento que mantém as cromátides unidas é o centrômero (seta). (Foto: Terry Allen)



Você pode estar curioso para saber como os cromossomos interfásicos, longos e finos, se enovelam dessa forma. A resposta está numa proteína que possui dois domínios capazes de se ligarem à hélice de DNA. Por ser capaz de promover a condensação dos cromossomos, às custas da hidrólise de ATP, foi denominada **condensina**. A condensina funciona como uma pinça em que cada extremidade se liga a um ponto da cadeia de DNA e se fecha em seguida, aproximando as duas (Figura 2.5).

Na região do centrômero, uma proteína da mesma família mantém as duas cromátides coesas. Seu nome? **Coesina**. Veja na Figura 2.5.b como se acredita que essa proteína mantenha as cromátides-irmãs unidas.

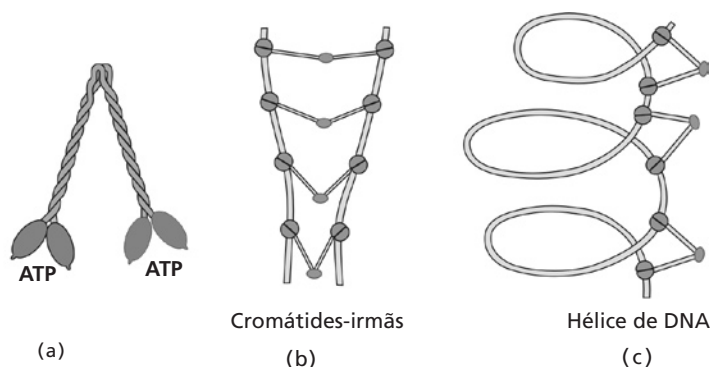


Figura 2.5: (a) Tanto as coesinas quanto as condensinas são proteínas diméricas, capazes de ligarem-se às hélices de DNA, aproximando-as. A coesina (b) aproxima as duas cromátides-irmãs, enquanto a condensina (c) ajuda na espiralização da cadeia de DNA, resultando na condensação do cromossomo.

Embora o envoltório nuclear ainda esteja intacto, a migração dos centrossomos para os pólos opostos tem início nessa etapa. À medida que migram para pólos opostos da célula, os microtúbulos se irradiam a partir dos centrossomos. Por lembrar uma estrela, cada uma dessas estruturas é chamada **áster** (Figura 2.6). Este é o início da formação do fuso acromático, que só estará completamente formado na etapa seguinte.

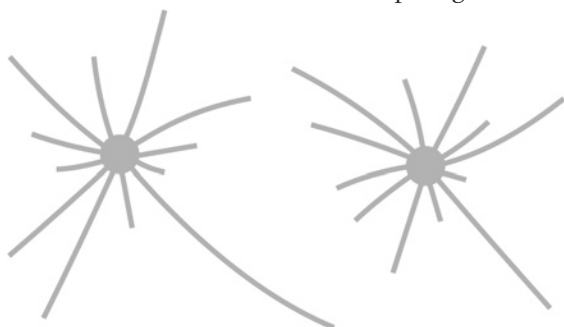


Figura 2.6: O áster é formado pela distribuição radial de microtúbulos em torno do centrossomo. Na prófase, os centrossomos, já duplicados, começam a migrar para pólos opostos.

PROMETÁFASE

Nas descrições mais antigas da prometáfase, dizia-se que nessa fase do ciclo celular o envoltório nuclear *desaparecia*. Na verdade, o envoltório nuclear, o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi não são visíveis nessa fase porque se fragmentam em vesículas, permitindo que alguns microtúbulos do fuso acromático se liguem ao cinetócoro dos cromossomos, já totalmente condensados.

O **cinetócoro** é um complexo de proteínas que se liga aos cromossomos na região do centrômero (Figura 2.7).

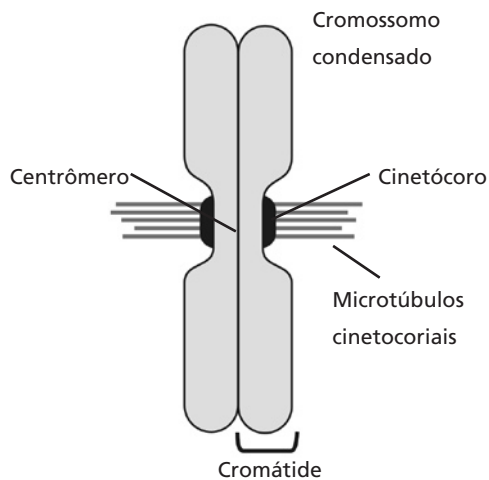


Figura 2.7: O cinetócoro é um complexo de proteínas que se associa ao cromossomo na região do centrômero. É nessa região que se ancoram microtúbulos do fuso responsáveis por movimentar os cromossomos.

Os cromossomos só se ligam ao fuso pelo cinetócoro. Essa ligação parece ser feita de modo aleatório, pelo sistema de *tentativa e erro*, isto é, os vários microtúbulos, que partem dos centrossomos de acordo com a instabilidade dinâmica que lhes é característica, crescem e encolhem rapidamente. Eventualmente, alguns deles tocam os cromossomos. Se esse contato acontecer na região *certa*, isto é, a extremidade do microtúbulo fazendo contato com o cinetócoro, o cromossomo permanecerá ancorado àquele microtúbulo. Como os cromossomos estão duplicados, os cinetócoros de cada uma das cromátides-irmãs ficará ligado a microtúbulos de um pólo. Os microtúbulos mais longos são mais *fortes*, *puxando* o cromossomo na direção do centrossomo no qual têm sua origem (**Figura 2.8**). Estabelece-se, assim, um verdadeiro *cabo de guerra* entre os dois pólos. Essa disputa termina empatada, com os cromossomos alinhados no equador da célula. Quando todos os cromossomos se alinham de forma equidistante dos pólos, significa que a divisão celular entrou na metáfase.

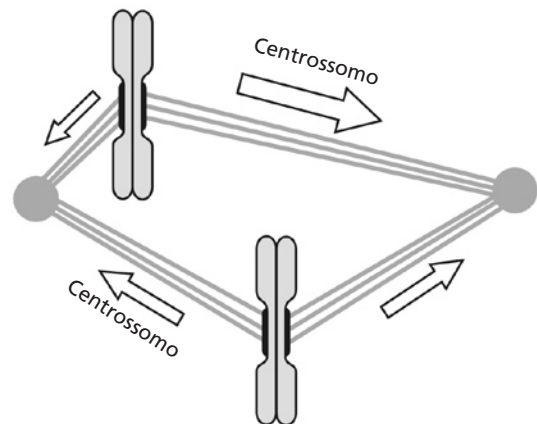


Figura 2.8: Na prometáfase, os cromossomos são puxados pelos microtúbulos do fuso. A maior força é exercida pelos microtúbulos mais longos (cromossomo da parte superior da figura). No plano médio, as forças se equilibram (cromossomo da parte inferior da figura) e o cromossomo permanece alinhado.

METÁFASE

Na metáfase, o fuso acromático já está plenamente desenvolvido e os cromossomos se alinham no plano equatorial da célula, eqüidistantes dos dois pólos. Além dos microtúbulos **astrais** – isto é, que compõem o áster –, e dos microtúbulos **cinetocoriais** – que se ligam ao cinetócoro dos cromossomos –, o fuso possui microtúbulos que desempenham uma terceira função. Trata-se de microtúbulos que partem dos pólos opostos e se interpenetram no plano equatorial da célula. Podemos chamá-los microtúbulos **interpenetrantes** (Figura 2.9). Os três tipos de microtúbulos são altamente dinâmicos, polimerizando-se e despolimerizando-se mais rapidamente que os microtúbulos das células interfásicas e formam o **fuso acromático** ou **fuso mitótico** (Figura 2.9). Conforme as forças exercidas pelos microtúbulos cinetocoriais ligados a cada uma das cromátides-irmãs se equilibram, encolhendo de um lado e alongando-se do outro, os cromossomos vão se dispondo na placa equatorial. Esta é a fase mais demorada da mitose e a divisão só prossegue quando todos os cromossomos se encontram alinhados.

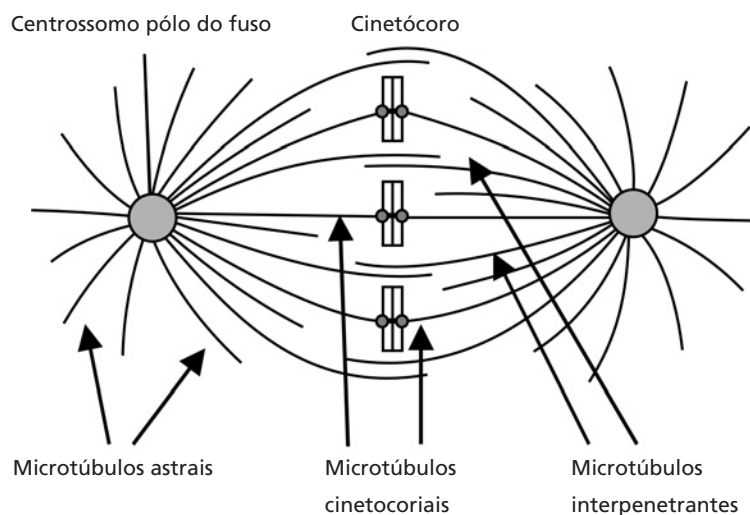


Figura 2.9: Esquema mostrando o fuso acromático na etapa de metáfase e as diferentes funções desempenhadas pelos microtúbulos que o formam.

ANÁFASE

Na anáfase, as cromátides-irmãs se separam e cada uma delas é *puxada* pelos microtúbulos cinetocoriais em direção a pólos opostos.

Você pode estar se perguntando: como as cromátides-irmãs se separam se elas estão ligadas pela coesina?

Boa pergunta! A resposta é bastante simples: a enzima **separase** se encarrega de cortar as pontes formadas pela coesina. Assim, cada cromátide é puxada para um pólo pelos microtúbulos cinetocoriais respectivos.

A migração dos cromossomos para pólos opostos resulta não apenas do *encolhimento* dos microtúbulos cinetocoriais. Proteínas motoras associadas aos microtúbulos interpenetrantes também contribuem para que haja entre eles um deslizamento que aumenta a distância entre os pólos (**Figura 2.10**).

Ainda não foi possível explicar como subunidades de tubulina podem se soltar da extremidade do microtúbulo voltada para o cinetócoro sem que a ligação entre a cromátide e o microtúbulo se desfaça.

O distanciamento provocado pelo deslizamento entre microtúbulos do fuso é o prenúncio da última fase da divisão celular, a telófase.

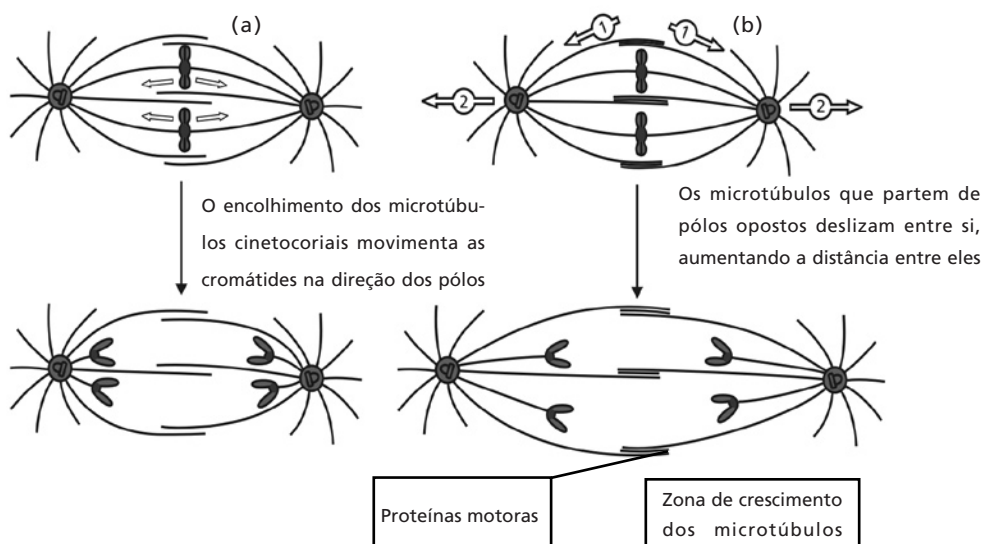


Figura 2.10: O afastamento das cromátides resulta de duas forças complementares. (a) Os microtúbulos cinetocoriais se despolimerizam e (b) os microtúbulos que se superpõem crescem. Além disso, proteínas motoras promovem o deslizamento entre eles.

TELÓFASE

A telófase corresponde ao final da mitose. Nessa etapa, os cromossomos já se encontram segregados em pólos opostos da célula e distanciados pelos microtúbulos que se superpõem (Figura 2.11). Esse distanciamento é fundamental para que ocorra a distribuição do citoplasma e das organelas entre as duas células-filhas. Esse processo é chamado **citocinese**.

Os microtúbulos astrais também exercem força de separação entre as células-filhas deslizando sobre proteínas motoras ligadas à membrana plasmática (Figura 2.12).

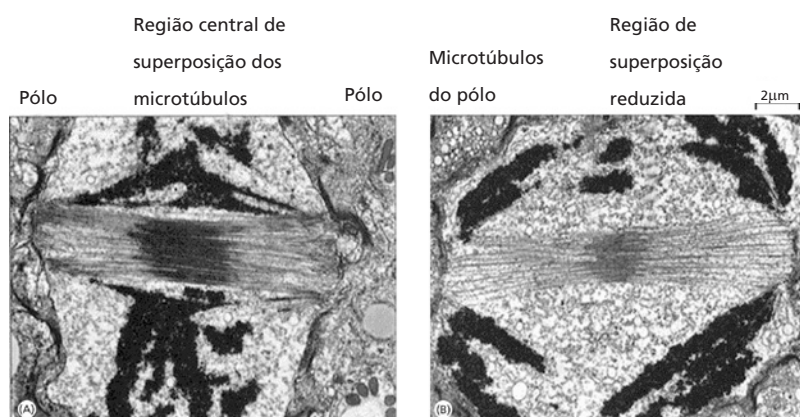


Figura 2.11: Na célula à esquerda, a sobreposição dos microtúbulos é maior que na da direita. Isso resulta em que os cromossomos estão mais afastados na segunda. (Foto: Jeremy D. Pickett-Heaps em *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publ. Co., 3rd ed.)

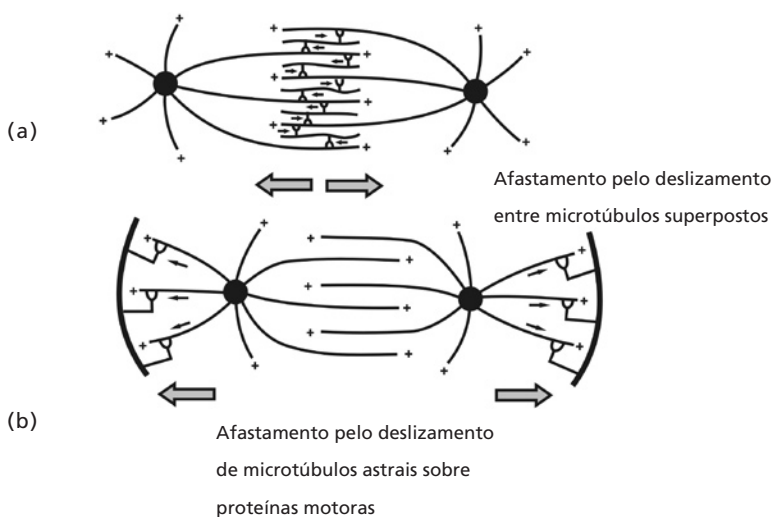


Figura 2.12: A interação com proteínas motoras leva os microtúbulos a se afastarem no plano equatorial da célula (a), ou a empurrar a membrana plasmática por ação de proteínas motoras acopladas a ela (b).

A separação final entre as células-filhas depende de um **anel de constrição** (ou **anel contrátil**) formado por filamentos de actina e moléculas de miosina (**Figura 2.13**).

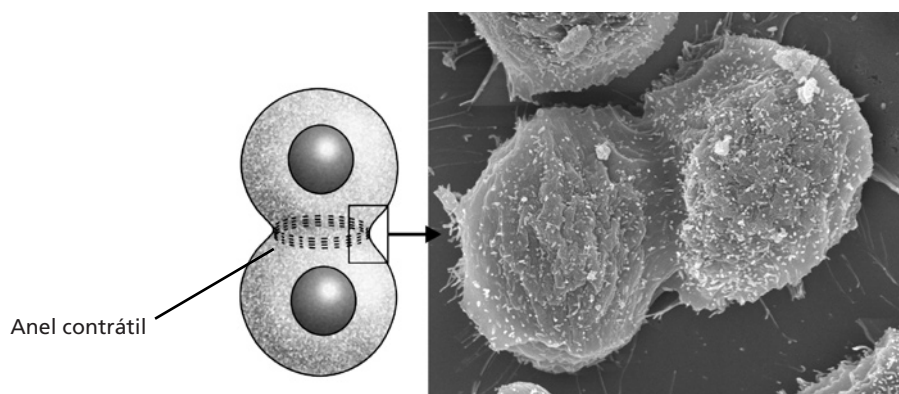
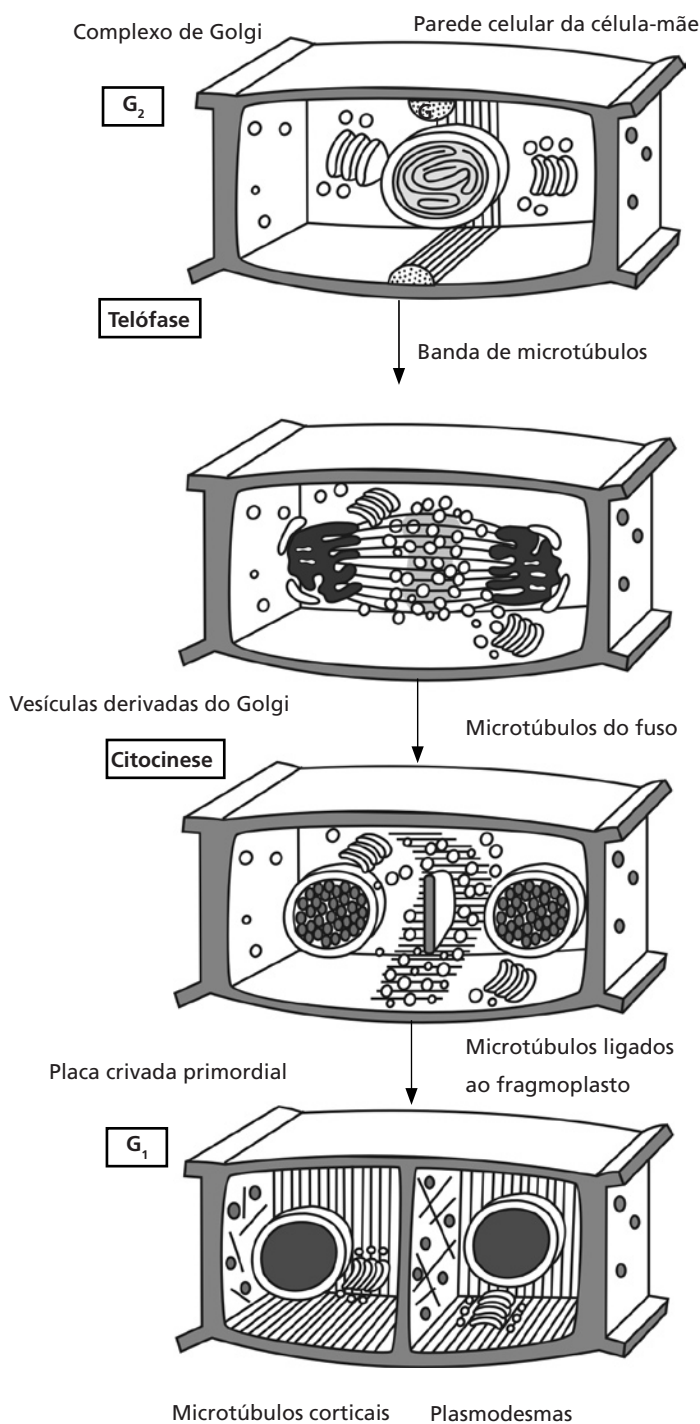


Figura 2.13: A separação entre as células-filhas se dá pelo estrangulamento resultante do deslizamento do anel de constrição, formado por filamentos de actina e moléculas de miosina. (Foto: Márcia Attias)

COMO SE DIVIDEM AS CÉLULAS VEGETAIS

A rígida parede de celulose que envolve as células vegetais impede que as duas células-filhas resultantes da mitose se separem por estrangulamento. Neste caso, o ponto de clivagem, onde as duas células serão delimitadas, vesículas contendo precursores da parede e elementos da própria membrana serão determinados pela disposição de microtúbulos. O processo pode ser acompanhado em linhas gerais na **Figura 2.14**, mas nas disciplinas de Botânica mais detalhes serão abordados.



Microtúbulos corticais formam uma banda que envolve a célula logo abaixo da membrana plasmática. Essa banda prediz onde a nova parede celular se fundirá quando a célula se dividir.

O fragmoplasto é formado na telófase pelos microtúbulos sobrepostos. Vesículas derivadas do complexo de Golgi carregando precursores da parede celular se associam a esses microtúbulos, acumulando-se na região equatorial e fundindo-se para formar a placa crivada primordial.

Microtúbulos associados ao fragmoplasto se formam na periferia da placa crivada primordial. Novas vesículas derivadas do Golgi são recrutadas para essa região, fundindo-se com a borda da parede celular, estendendo-se para fora. Os microtúbulos impedem a total fusão dessas membranas, resultando nos plasmodesmas.

A membrana da placa crivada em expansão funde-se à membrana plasmática da célula-mãe, completando a nova parede celular. O arranjo cortical de microtúbulos interfásicos é restabelecido em cada uma das células-filhas.

Figura 2.14: As principais etapas da divisão de uma célula vegetal.

A DIVISÃO NOS PROCARIOTOS

Nas bactérias, a divisão celular é chamada **fissão binária** e é muito mais simples (e rápida) que nos eucariontes. O processo se resume na duplicação do cromossomo único da bactéria. O cromossomo duplicado é translocado para o pólo oposto da célula e uma invaginação da membrana bacteriana separa a bactéria em duas. Essa fissão depende de uma proteína, a FtsZ, que possui algumas semelhanças com a tubulina de eucariontes e forma um anel que se contrai, orientando o crescimento da parede bacteriana na fenda que se forma, resultando na fissão binária (Figura 2.15).

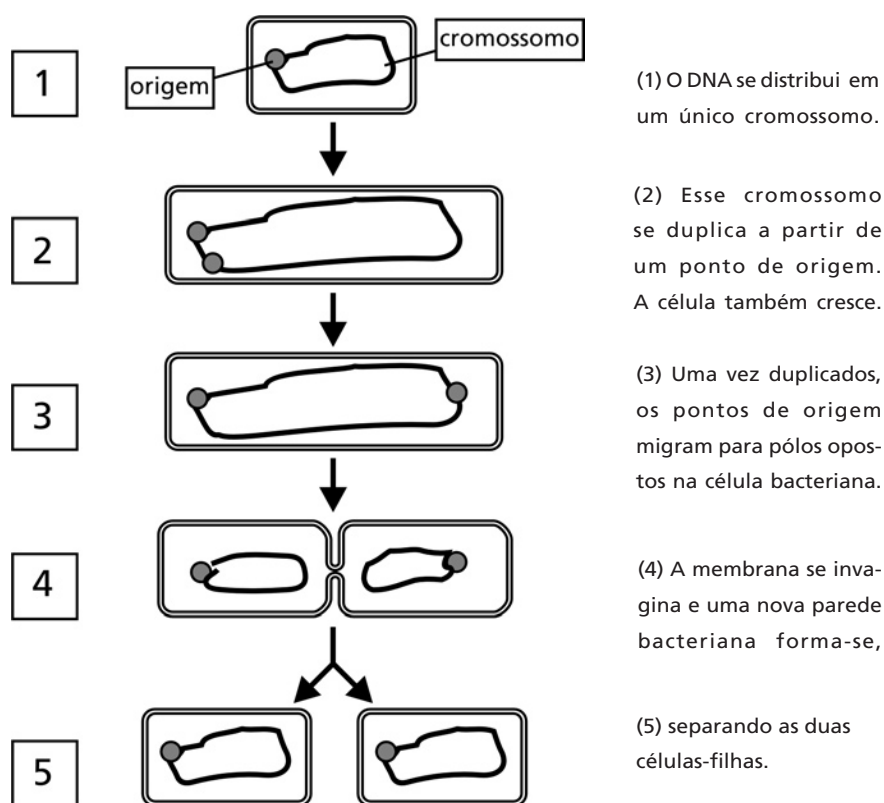
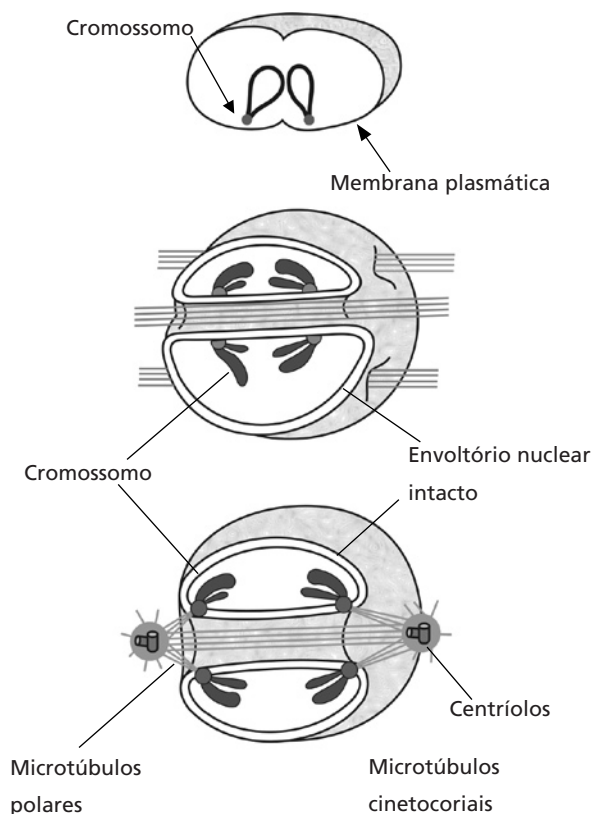


Figura 2.15: Principais etapas da divisão de uma célula procarionte.

Entre a divisão celular bacteriana e a mitose, na qual um aparelho mitótico sofisticado é montado a partir do citoesqueleto, várias etapas adaptativas aconteceram. Ainda hoje existem organismos em que a divisão celular parece representar estágios intermediários dessa evolução.

- Em alguns dinoflagelados (um tipo de alga), o envoltório nuclear não se desfaz. Na verdade, nesses organismos a segregação dos cromossomos depende da adesão à membrana interna do núcleo.
- Em alguns protozoários, o fuso mitótico se forma através de um túnel, e o envoltório nuclear não se desfaz, mas alguns microtúbulos penetram no núcleo, ligando-se aos cromossomos.
- Em algumas leveduras (fungos), o fuso se forma *dentro* do núcleo. Essas formas de divisão estão esquematizadas na **Figura 2.16** e são uma demonstração clara das muitas tentativas que a natureza faz até encontrar o sistema mais eficiente para replicação de cada organismo.



Bactérias

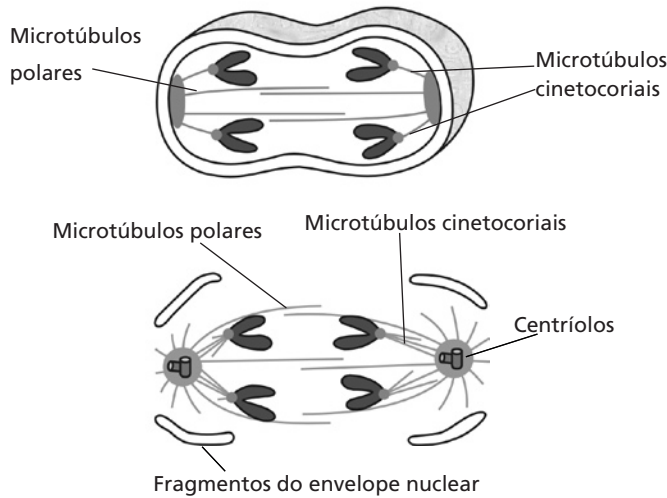
Cromossomos-filhos aderidos à membrana plasmática são separados pelo crescimento da mesma.

Dinoflagelados típicos

Vários feixes de microtúbulos passam através de túneis no envelope nuclear intacto, estabelecendo a polaridade da divisão. Os cromossomos se movem associados à membrana nuclear interna, sem aderir aos microtúbulos.

Outros protozoários

Um único feixe de microtúbulos forma o fuso que atravessa o envoltório nuclear, formando um túnel. Os cromossomos se ligam pelos cinetócoros à membrana nuclear e interagem com os pólos pelos microtúbulos cinetocoriais.



Leveduras e algas diatomáceas

O envelope nuclear permanece intacto; o fuso se forma dentro do núcleo, associado ao envelope nuclear. Cada cinetócoro se liga a um único microtúbulo.

Células de animais

O fuso começa a se formar fora do núcleo. Na prometáfase, o envoltório se desagrega e os cromossomos podem se ligar a microtúbulos do fuso.

Figura 2.16: Formas de divisão de vários organismos.

RESUMO

- Quando a fase M (mitose) se inicia, os cromossomos e os centrossomos já foram duplicados, nas fases S e G₂.
- Na prófase, os dois centrossomos se separam e começam a se dirigir para pólos opostos da célula. Os cromossomos também iniciam o processo de individualização.
- A prometáfase é a fase em que o envoltório nuclear se fragmenta e alguns microtúbulos do fuso *capturam* os cromossomos.
- Os cromossomos duplicados permanecem unidos pelo centrômero. Um complexo de proteínas ao redor do centrômero constitui o cinetócoro. Os cromossomos se ligam ao fuso sempre pelo cinetócoro.
- Forças antagônicas, exercidas pelos microtúbulos que partem dos pólos, *levam* os cromossomos para o plano equatorial da célula, formando a placa metafásica.
- A enzima *separase* corta a ligação entre as cromátides-irmãs e cada uma delas se dirige a um dos pólos. Essa separação é essencial para a anáfase.
- Na anáfase, dois mecanismos levam ao afastamento das cromátides-irmãs: a despolimerização dos cromossomos cinetocoriais e o deslizamento, mediado por proteínas motoras, entre os cromossomos sobrepostos.
- Na telófase, novo envoltório nuclear se forma em torno de cada núcleo-filho e o citoplasma se contrai no plano equatorial. Os microtúbulos do fuso predizem o local onde o anel contrátil, formado por actina e miosina, se formará, levando à separação das células-filhas.

EXERCÍCIOS

1. Qual o principal objetivo da divisão celular?
2. Quais são as fases tradicionalmente estabelecidas para descrever a divisão celular?
3. Em que etapa do ciclo celular ocorre:
 - a) Duplicação dos cromossomos?
 - b) Condensação dos cromossomos?
 - c) Duplicação dos centrossomos?
 - d) Formação do fuso mitótico?
 - e) Migração dos cromossomos para o equador da célula?
 - f) Formação da placa metafásica?
 - g) Migração dos cromossomos para os pólos?
 - h) Desagregação e reorganização do envoltório nuclear?
4. Qual o papel das seguintes proteínas que participam da divisão celular?

Coesina:

Condensina:

Separase:
5. Como os microtúbulos podem participar da mitose?
6. O que é a citocinese?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Discutir a importância do aparecimento de um núcleo individualizado.
- Listar os componentes estruturais do núcleo durante a intérfase.
- Enumerar os diversos graus de organização da cromatina.
- Correlacionar aparência, composição e função do nucléolo.

Pré-requisitos

Compartimentalização celular (Aula 15 de Biologia Celular I).

Controle do ciclo celular (Aula 1 de Biologia Celular II).

Divisão celular (Aula 2 de Biologia Celular II).

INTRODUÇÃO

Durante a intérfase, quase todo o genoma de um eucarioto está dentro de um compartimento, o núcleo. O núcleo é o maior compartimento celular, ocupando em média 10% do volume total da célula. A maioria das células possui apenas um núcleo, com exceção de:

- eritrócitos de mamíferos, que perdem o núcleo durante a diferenciação;
- células derivadas da fusão de células precursoras, como as células musculares esqueléticas, que possuem muitos núcleos;
- certos protozoários, como os do gênero *Giardia*, que são binucleados (Figura 3.1).

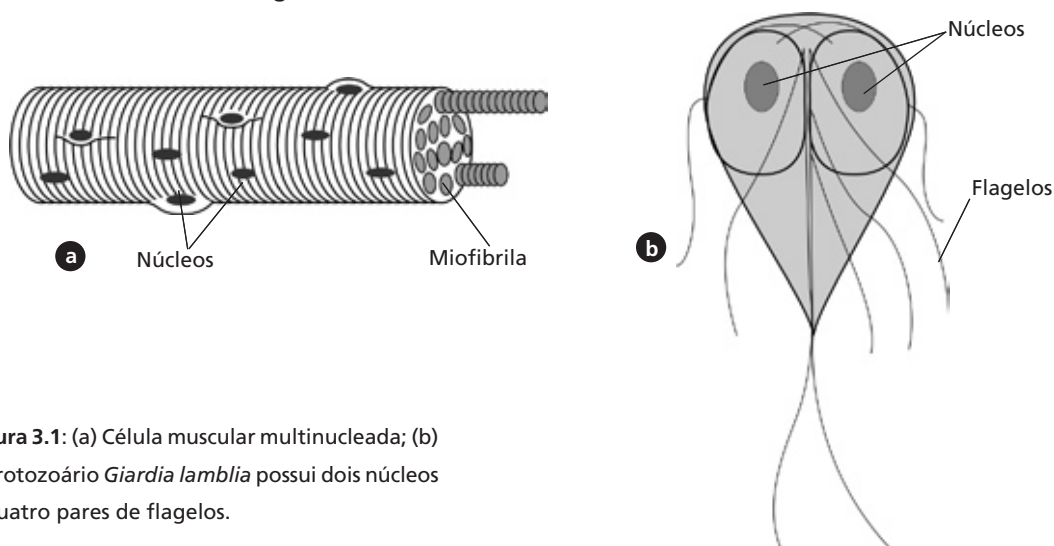


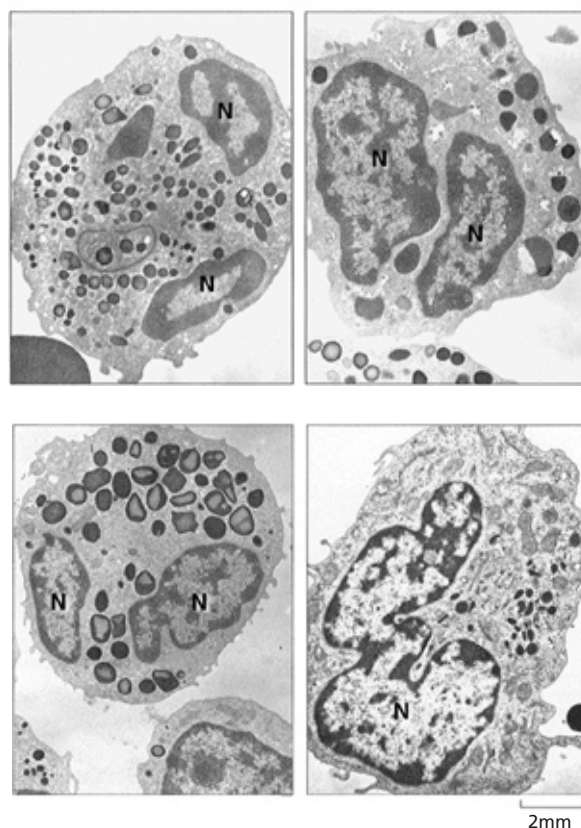
Figura 3.1: (a) Célula muscular multinucleada; (b) o protozoário *Giardia lamblia* possui dois núcleos e quatro pares de flagelos.

O núcleo costuma ter formato arredondado e ocupar posição central nas células, mas pode ficar na periferia, como nas células musculares (Figura 3.1) ou nos adipócitos (veja a Figura 27.2 em Biologia Celular I) e não serem redondos, como os núcleos de leucócitos (Figura 3.2).

IMPORTÂNCIA EVOLUTIVA

Você aprendeu em Biologia Celular I (Aula 15) que a compartimentalização foi um grande avanço evolutivo porque permitiu que as diferentes funções celulares pudessem ser distribuídas em diferentes locais, onde as moléculas envolvidas em determinada atividade celular estão próximas. Esse raciocínio se aplica perfeitamente ao compartimento nuclear, mas há outras vantagens que tornaram o aparecimento do núcleo evolutivamente tão importante.

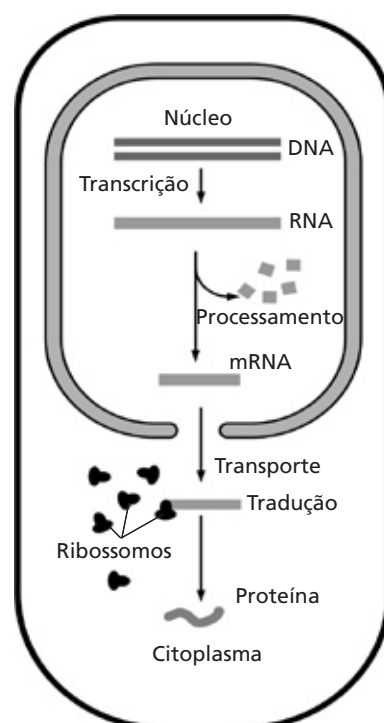
Figura 3.2: Micrografias eletrônicas de glóbulos brancos: em A, um neutrófilo; em B, um basófilo; em C, um eosinófilo; em D, um monócito. Todos possuem apenas um núcleo (N), que tem formato irregular. Como estamos vendo cortes ultrafinos dessas células, nem sempre todas as partes do núcleo aparecem no plano de corte. Fotos: Dorothy Bainton.



CADA COISA EM SEU LUGAR

A maior vantagem evolutiva do aparecimento de um núcleo individualizado foi, sem dúvida alguma, a separação entre a transcrição (síntese de uma fita de RNA a partir do DNA) e a tradução (síntese de um peptídeo a partir da fita de RNA). Os dois eventos estão separados em eucariotos porque não existem ribossomos maduros no compartimento nuclear. Isso garante que os mRNA produzidos na transcrição tenham de sair do núcleo para o citoplasma antes de começarem a ser traduzidos. Qual a vantagem disso? Criar oportunidade de processar o RNA antes que ele saia do núcleo (Figura 3.3).

Figura 3.3: Em eucariotos, a transcrição e a tradução ocorrem em compartimentos diferentes. Assim, o RNA sintetizado na transcrição pode ser processado ainda no núcleo, antes de ser transportado para o citoplasma, onde será traduzido pelos ribossomos.



Para que você possa avaliar o impacto evolutivo da separação dos eventos de transcrição e tradução, basta lembrar que a quantidade de **informação** contida no genoma de procariotos é muito menor que a contida no genoma dos eucariotos. Essa diferença não se deve apenas à maior massa de DNA presente neles. Nos procariotos, os genes estão arranjados em sequência linear. Se toda a diversidade de informação dos eucariotos tivesse de ser arranjada na forma de genes enfileirados, seria impossível acomodar o comprimento de seu genoma numa célula! Foi a oportunidade de processar o RNA resultante da transcrição que gerou a possibilidade de sobrepor informações. Ao ser processada, cada molécula de RNA ora perde uma parte, ora outra parte, transpõe regiões etc., podendo gerar vários mRNA, cada um resultando numa proteína diferente. Assim, as células eucarióticas puderam se tornar muito mais complexas, com uma variedade de proteínas muito maior do que a variedade genômica.

Se você tinha aprendido que o aparecimento do núcleo foi evolutivamente importante porque protegeu o DNA, não se preocupe. Esse conceito não está errado. De fato, envolvido por um envelope tão bem estruturado (você já vai ver!), o genoma está protegido de todo o *movimento* do citoplasma. Mas vamos reconhecer que, se nada mais tivesse acontecido depois do aparecimento do núcleo, a diferença entre eucariotos e procariotos seria muito menor!

A ORGANIZAÇÃO GERAL DO NÚCLEO INTERFÁSICO

O núcleo é o compartimento que contém o DNA, organizado na forma de **cromatina**, e está separado do citoplasma por um envelope ou **envoltório nuclear**. O envoltório define um ambiente nuclear, cuja matriz é diferenciada, o **nucleoplasma**. O nucleoplasma e o citoplasma se comunicam diretamente através de aberturas no envoltório. Essas aberturas não são simples buracos, e sim poros muito bem estruturados, denominados **complexos do poro**.

Partes diferentes da cromatina têm arranjos especiais, sendo o **nucléolo** o mais conhecido deles. O envoltório nuclear, formado por duas membranas, está sustentado tanto pelo lado citoplasmático quanto pelo lado nuclear, por filamentos do citoesqueleto (**Figuras 3.4 e 3.5**). No lado nuclear, filamentos intermediários formam a **lâmina nuclear**.

No lado citoplasmático, outros tipos de filamentos intermediários, além de microtúbulos, colaboram com a sustentação. O próprio centro organizador de microtúbulos (centrossomo) se encontra bastante próximo do envoltório nuclear.

Vamos dedicar atenção especial a cada uma dessas principais estruturas nucleares nesta e na próxima aula.

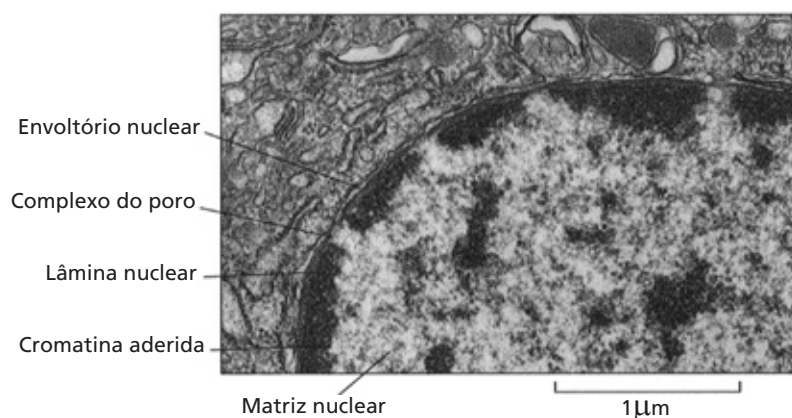


Figura 3.4: Micrografia eletrônica da região nuclear. Note que a cromatina aderida fica excluída da área sob o complexo do poro. Foto: Larry Gerace.

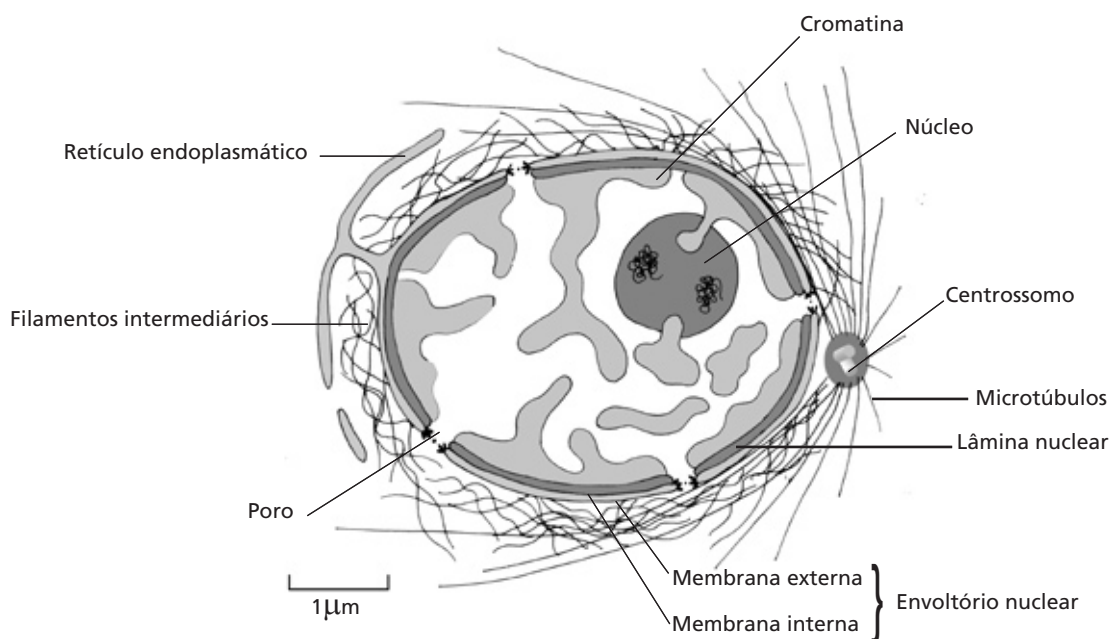


Figura 3.5: Esquema ilustrativo da organização geral do núcleo. Esse esquema se baseia em informações obtidas a partir de micrografias como a mostrada na **Figura 3.4**.

ORGANIZAÇÃO DA CROMATINA

Você está estudando a organização do DNA e seu metabolismo em Biologia Molecular, por isso aqui só vamos abordar alguns aspectos da organização do DNA de eucariotos, especialmente na intérfase.

Como acabamos de ver, o genoma dos eucariotos é muito grande, e esse tamanho torna difícil sua acomodação dentro do núcleo. É necessário que as moléculas de DNA estejam compactadas.

O grau de compactação do DNA varia no ciclo celular, como já foi mencionado nas duas últimas aulas, atingindo seu máximo na fase M, quando é possível individualizar, contar e classificar as moléculas de DNA, ali chamadas cromossomos. Existem regiões do cromossomo essenciais para a manutenção de sua integridade e para que possa haver replicação. Essas regiões são o centrômero, os telômeros e as origens de replicação (Figura 3.6). Nos eucariotos, as moléculas de DNA estão compactadas com proteínas, formando o arranjo que nós chamamos cromatina.

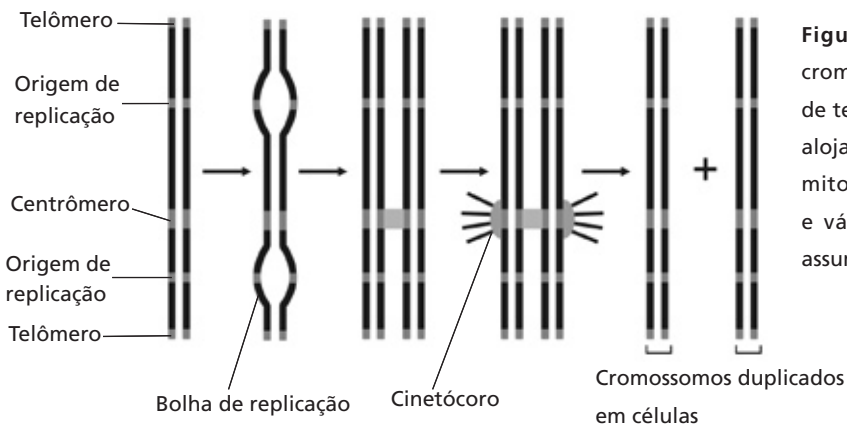


Figura 3.6: Regiões essenciais dos cromossomos: cada cromossomo tem de ter um centrômero, sobre o qual se alojam as proteínas do cinetócoro na mitose, telômeros nas extremidades e várias origens de replicação, que assumem o aspecto de bolhas na fase S.

As proteínas que compactam o DNA são classificadas em histonas e não-histonas. As histonas são proteínas muito adequadas para interagir com o DNA (ácido desoxirribonucléico) porque têm alto teor de aminoácidos carregados positivamente, sendo, portanto, básicas. Quatro histonas diferentes (H2A, H2B, H3 e H4), com duas cópias de cada, formam um octâmero ao redor do qual a fita dupla de DNA está enrolada (Figuras 3.7 e 3.8). Esse arranjo é chamado **nucleossomo**. O segmento de DNA que fica entre dois nucleossomos é chamado DNA de ligação e pode variar de tamanho. Já o segmento que envolve um nucleossomo tem tamanho bastante regular, de cerca de 200 pares de bases.

Figura 3.7: Modelo do nucleossomo visto de dois ângulos diferentes, com o DNA representado pelo tubo helicoidal (A) ou pelas linhas paralelas (B) ao redor das histonas. Esquema de Evangelos Moudrianakis.

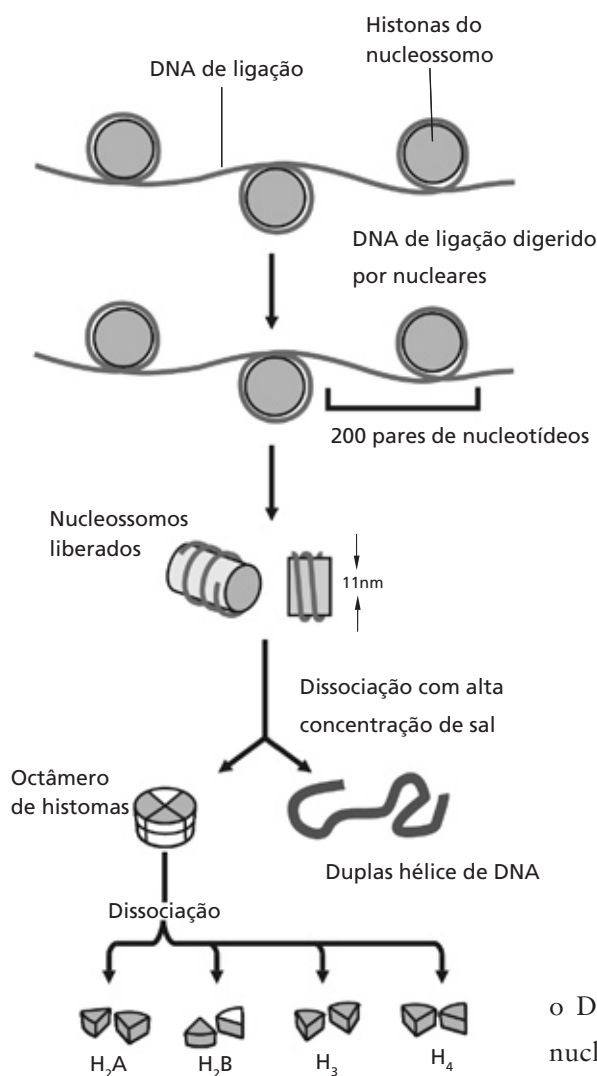
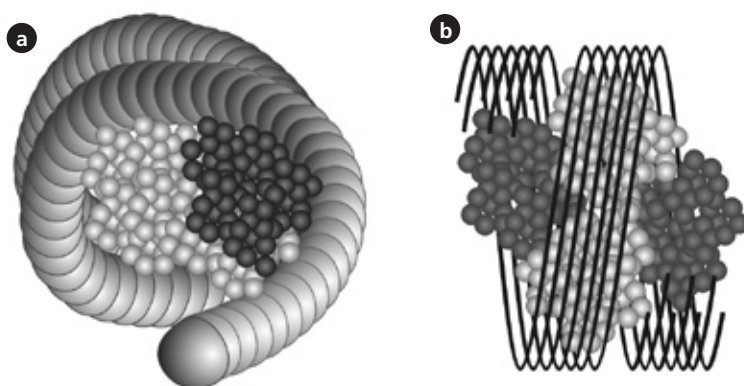
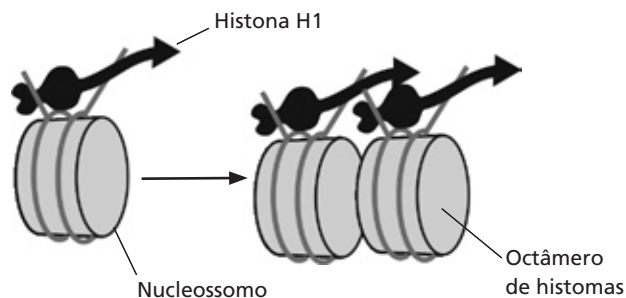


Figura 3.8: Procedimento para dissociar os nucleossomos e separá-los das histonas.

Existe ainda uma outra histona compactando o DNA, a histona H1, que não faz parte do nucleossomo. Ela fica por fora do arranjo de nucleossomos, ajudando a torná-lo mais frouxo ou mais compactado (Figura 3.9).

Figura 3.9: A histona H1 liga-se por fora dos nucleossomos, ajudando a mantê-los mais próximos ou mais afastados.



A estrutura formada pelos nucleossomos intercalados por DNA de ligação assemelha-se a um *colar de contas* (Figura 3.10.b). Quando assume a configuração nativa, ela se arranja como a *fibra de 30nm* (Figura 3.10.a). A fibra de 30nm consiste no colar de nucleossomos enrolado sobre si próprio, encurtando muito a molécula de DNA (Figura 3.11).

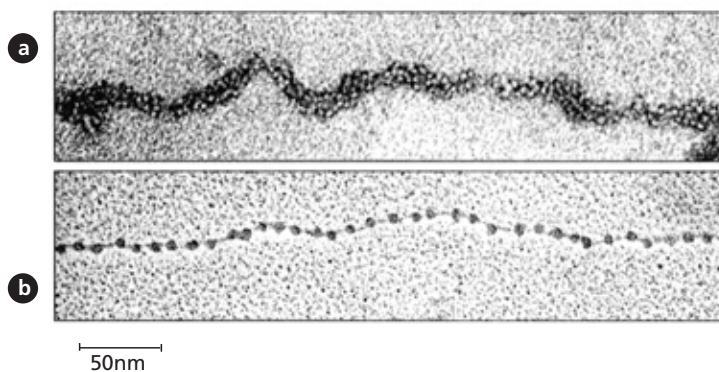


Figura 3.10: Micrografia eletrônica de um trecho de DNA no estado compactado natural (a) e depois descompactado (b). A molécula nativa (A) é chamada fibra de 30nm e o DNA no seu estado descompactado (B) é comparado a um colar de contas. Fotos: (a) de Barbara Hamkalo; (b) Victoria Foe.

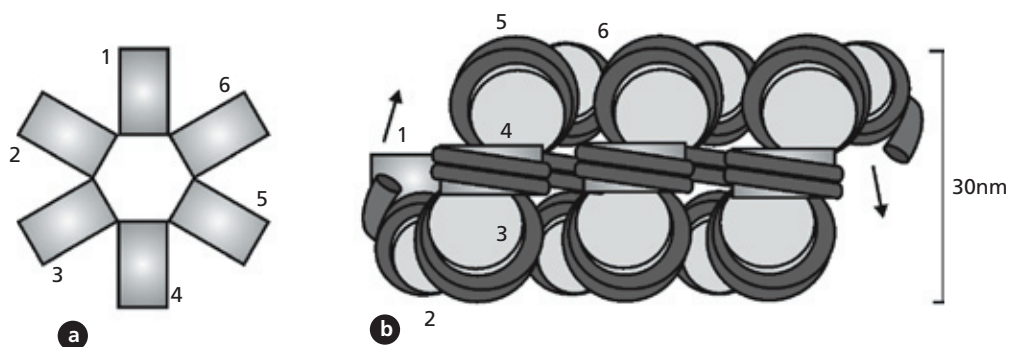


Figura 3.11: Nucleossomos enrolados sobre si próprios. Em (a), aspecto frontal de uma fibra, em (b), o aspecto lateral. Os primeiros seis nucleossomos estão numerados, para facilitar a compreensão.

Mesmo na forma de fibra de 30nm, um cromossomo típico teria aproximadamente 1mm de comprimento, ficando impossível acomodá-lo dentro de uma célula. É necessário, portanto, que o DNA seja ainda mais compactado. Em contrapartida, se o DNA estiver compactado demais durante a intérfase, atividades como transcrição e replicação certamente ficarão muito dificultadas. Assim, é fácil supor que o mecanismo de compactação do DNA tenha de ser dinâmico, facilitando o acesso das enzimas quando necessário (Figura 3.12). Regiões descompactadas do DNA também são alvo fácil para degradação por DNAses.

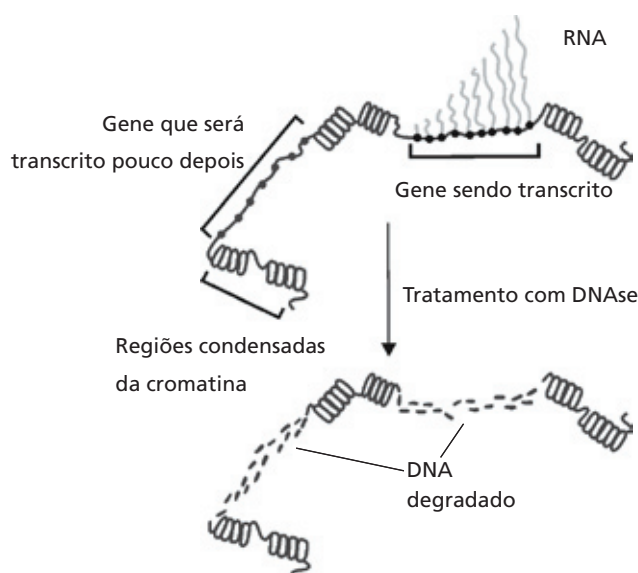


Figura 3.12: Para que haja transcrição, é necessário que o DNA esteja descompactado. As regiões descompactadas também ficam acessíveis à degradação.

Talvez você já tenha ouvido ou lido os termos **eucromatina** e **heterocromatina**. A eucromatina (ou *cromatina verdadeira*) é aquela que transcreve; portanto, corresponde ao estado descompactado. Já a heterocromatina está no seu estado mais compactado, inacessível a enzimas de transcrição ou de degradação. Fica assim mais protegida e ocupa menos espaço (Figura 3.13). Cada região do genoma ora está na forma de eucromatina, nos momentos em que transcreve, ora na de heterocromatina, quando quiescente.

Os vários níveis de organização da cromatina, desde o estado mais compactado – o cromossomo metafásico – até a molécula de DNA sem as proteínas de compactação estão representados na Figura 3.13.

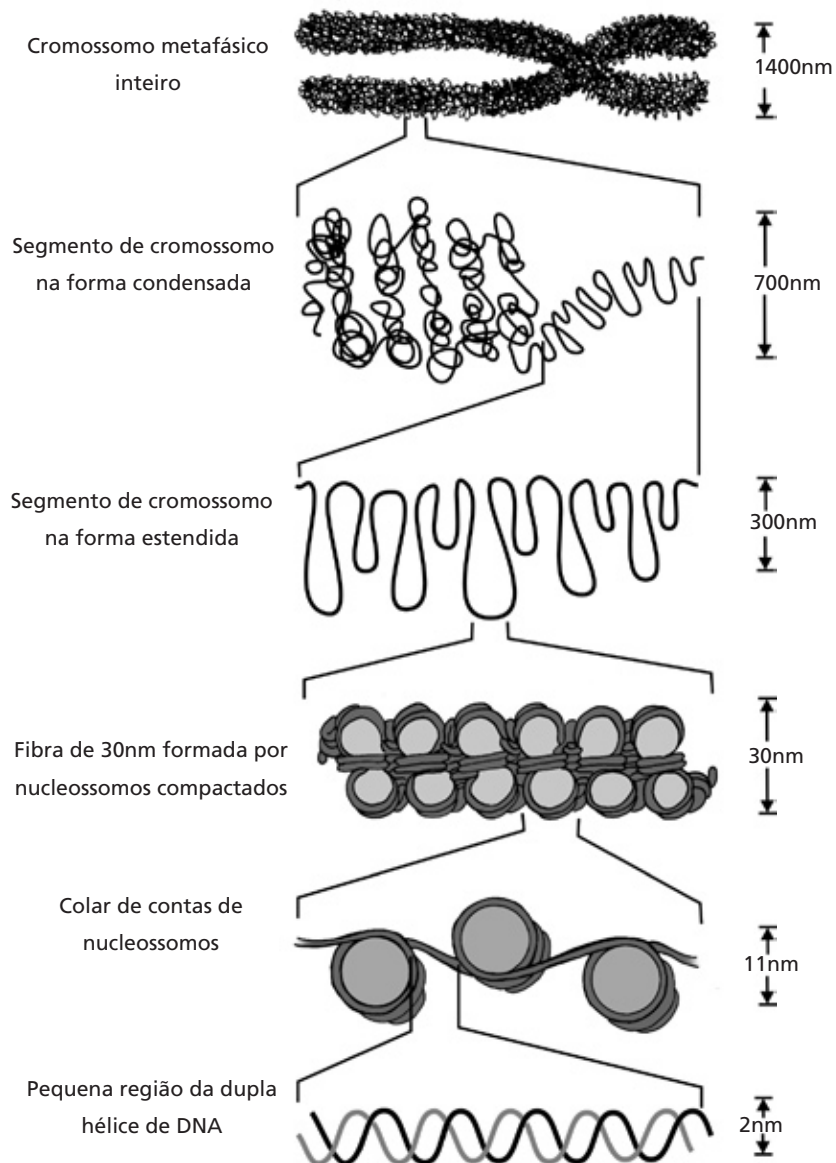


Figura 3.13: Um cromossomo metafásico pode ir sendo desenrolado até chegar ao estado mais simples do DNA, a dupla hélice.

Se você reparar nas micrografias eletrônicas de núcleos interfásicos, sejam irregulares como os da **Figura 3.2**, ou regulares, como os das **Figuras 3.5 e 3.14**, vai perceber que parte da cromatina tem aspecto bastante eletrondenso.

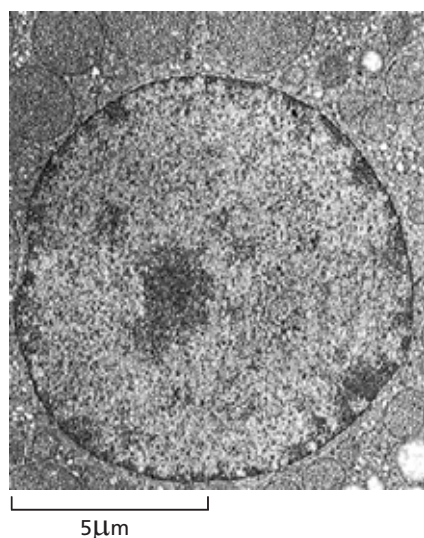


Figura 3.14: Micrografia eletrônica de um núcleo interfásico típico de células de mamífero. Foto: Daniel Friend.

O aspecto eletrondenso está, na maior parte das vezes, relacionado ao estado compactado da cromatina, a heterocromatina (nem sempre, você já vai conhecer as exceções). Poderíamos, assim, correlacionar as regiões eletrondensas do núcleo com regiões do genoma que não estão transcrevendo. Observando bem as fotos, você vai reparar que sempre existe heterocromatina na região mais periférica do núcleo, bem juntinho do envoltório nuclear. A identificação dessa parte da cromatina veio por acaso: testando o soro de pacientes de **DOENÇAS AUTO-IMUNES** por imunofluorescência em células em mitose e na intérfase, constatou-se que os anticorpos fluorescentes reconheciam os telômeros dos cromossomos mitóticos e também a heterocromatina aderida ao envoltório nuclear em células interfásicas.

Examinando células de outras espécies, nem sempre encontramos os telômeros aderidos ao envoltório nuclear durante a intérfase. Mas esse dado foi importante porque deu início à idéia, cada vez mais aceita, de que durante a intérfase os cromossomos descondensados não estão *embolados* dentro do núcleo. Muito ao contrário, parece haver grande organização do genoma. Alguns autores supõem que, à semelhança do que ocorre no citoplasma, existe um **nucleoesqueleto** sustentando essa organização. De fato, se aplicarmos a núcleos isolados a mesma metodologia de extração do citoesqueleto, usando detergentes não-iônicos, um material protéico é isolado. Sob certas condições, esse material parece formar filamentos, mas sua organização não é semelhante à dos grupos de filamentos do citoesqueleto. Nenhuma das proteínas conhecidas do citoesqueleto faz

DOENÇAS AUTO-IMUNES

São causadas por falhas do sistema imune, que não elimina células produtoras de anticorpos que reconhecem as moléculas do próprio indivíduo (*self*). Os pacientes dessas doenças possuem na circulação anticorpos que conhecem e atacam suas próprias células.

parte do **nucleoesqueleto**. Na verdade, foi recentemente demonstrado que a actina, que forma microfilamentos no citoplasma, apesar de poder entrar no núcleo (na próxima aula você vai ver quem pode entrar no núcleo), nunca é encontrada lá, sendo ativamente excluída. Por enquanto, fica a noção de que o núcleo interfásico é organizado. Ainda faltam dados para estabelecer quem é responsável por essa organização.

NUCLÉOLO

Ainda reparando nas micrografias do núcleo interfásico, você diria que há outra região eletrondensa, que, portanto, deve corresponder à heterocromatina: o nucléolo. Nesse caso, no entanto, a correlação não se aplica. O nucléolo é eletrondenso por outro motivo. Na verdade, seria *injusto* dizer que o nucléolo é heterocromatina. Se heterocromatina é o estado compactado, aquele inacessível a enzimas, portanto, quiescente, o nucléolo é tudo menos isso! Talvez você já tenha ouvido antes que o nucléolo é uma fábrica de ribossomos. Como tal, é uma das regiões do núcleo que mais trabalha! Na verdade, no nucléolo estão os genes que codificam para os RNA ribossomais (rRNA) e para as proteínas que fazem parte dos ribossomos. Se o nucléolo fosse mesmo uma fábrica, ela teria o certificado ISO9001 de qualidade total!

Sabendo que os genes que codificam para os rRNA estão no nucléolo, você poderia pensar que esses genes estão no mesmo cromossomo. Não estão! Na espécie humana, por exemplo, estão em cinco cromossomos diferentes: 13, 14, 15, 21 e 22. Mas como eles podem estar na mesma região do núcleo? A solução desse enigma está na **Figura 3.15**.

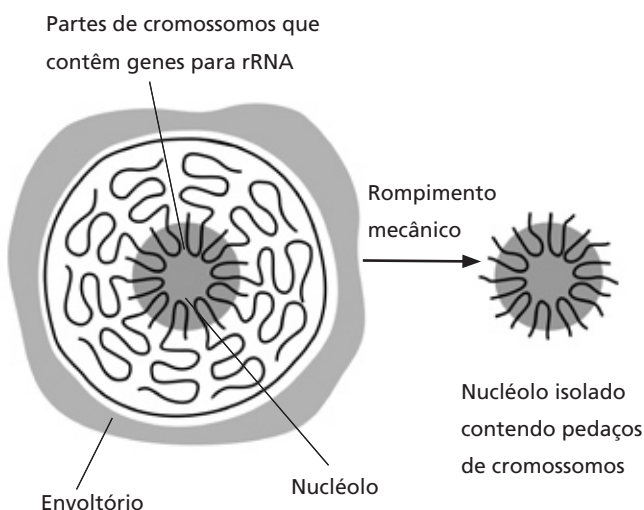


Figura 3.15: Núcleos isolados podem ser usados para, por rompimento mecânico, isolar nucléolos.

Durante a intérfase, as regiões dos cromossomos que contêm genes que codificam para os RNA se aproximam. Os genes que codificam os mRNA que vão produzir as proteínas ribossomais no citoplasma também se aproximam no nucléolo. Depois de serem produzidas no citoplasma (por outros ribossomos!), as proteínas ribossomais voltam ao núcleo pra começar a se associar aos rRNA e formar novos ribossomos.

Mas atenção, **perigo!** Se os ribossomos ficassem prontos, poderiam iniciar a tradução dos mRNA antes que eles fossem processados! Lá se ia a maior vantagem evolutiva dos eucariotos por água abaixo!

As subunidades ribossomais ficam quase prontas no núcleo, mas só amadurecem depois de chegar ao citoplasma (Figura 3.16).

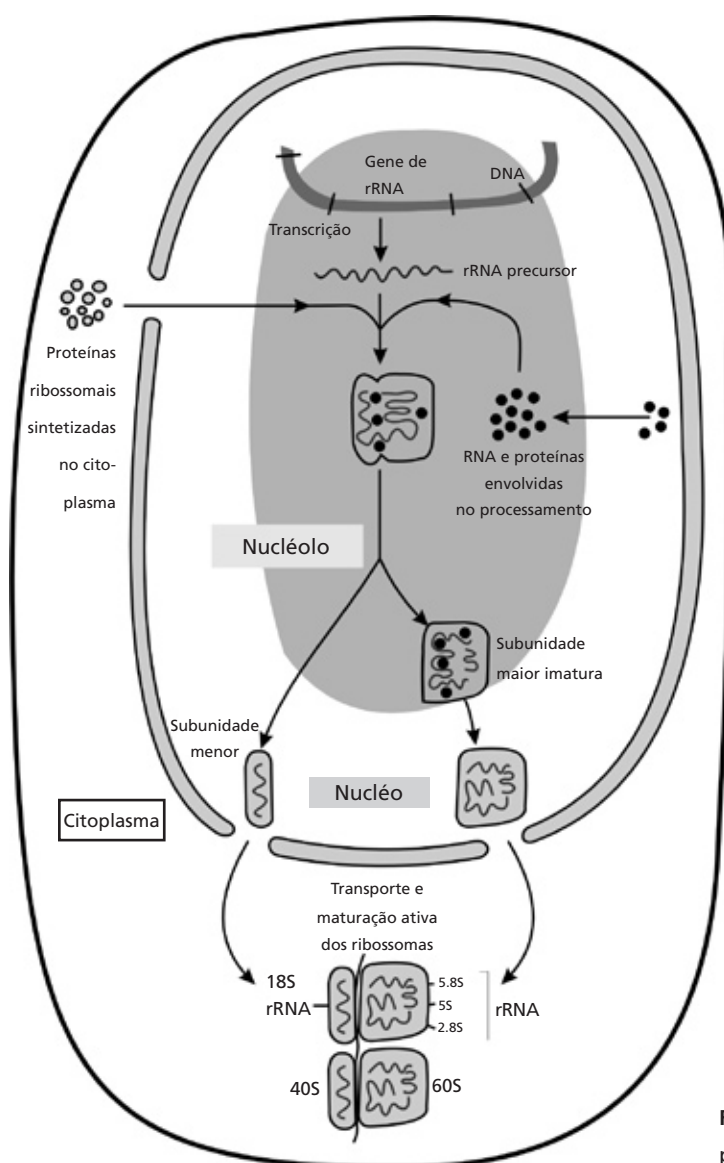


Figura 3.16: Esquema geral da produção de ribossomos pelo nucléolo.

Todo o processamento dos rRNA a partir do precursor é realizado no nucléolo por um conjunto de RNA e proteínas muito bem organizado. As proteínas vêm do citoplasma e se juntam ao nucléolo, facilitando o arranjo ao mesmo tempo em que os RNA são processados. Para que tudo funcione a contento, o próprio nucléolo precisa ser muito organizado. Em micrografias de grande aumento é possível perceber que o nucléolo é subcompartimentalizado, com regiões densas e regiões fibrilares (**Figura 3.17**). Com tantos RNA e proteínas associados, não é de estranhar que o nucléolo seja eletrondenso, apesar de não ser formado por heterocromatina!

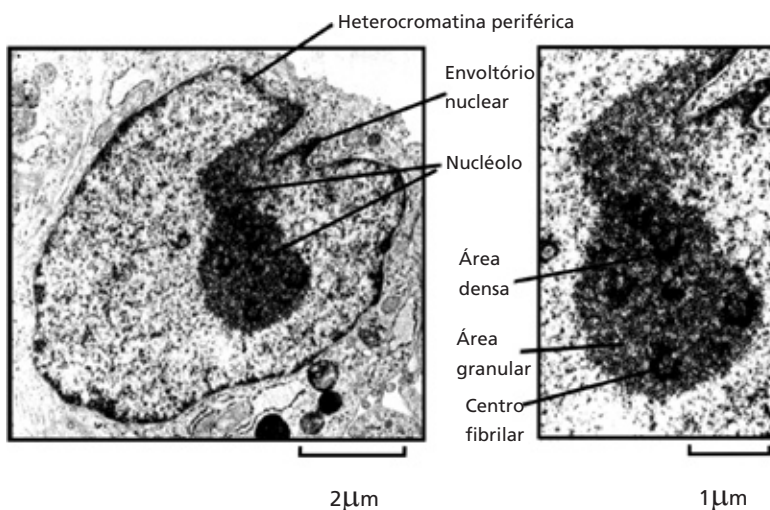


Figura 3.17: Sub-regiões do nucléolo.
Fotos: E. G Jordan e J. McGovern.

QUANTOS NUCLÉOLOS TEM UMA CÉLULA?

Depende da fase do ciclo celular em que ela se encontra. Durante a intérfase, o nucléolo é um só.

À medida que a fase M se aproxima e os cromossomos começam a se compactar, os diferentes cromossomos que possuem genes para rRNA se afastam, mas ainda continuam a transcrever, fazendo parecer que existem vários nucléolos. A transcrição dos genes ribossomais só pára mesmo na prometáfase, por isso nessa fase não há nucléolo nenhum. A divisão celular mal terminou e os genes ribossomais recomeçam sua intensa atividade de transcrição e montagem de ribossomos, ainda antes que os cromossomos – onde se localizam – possam se reaproximar (**Figuras 3.18 e 3.19**).

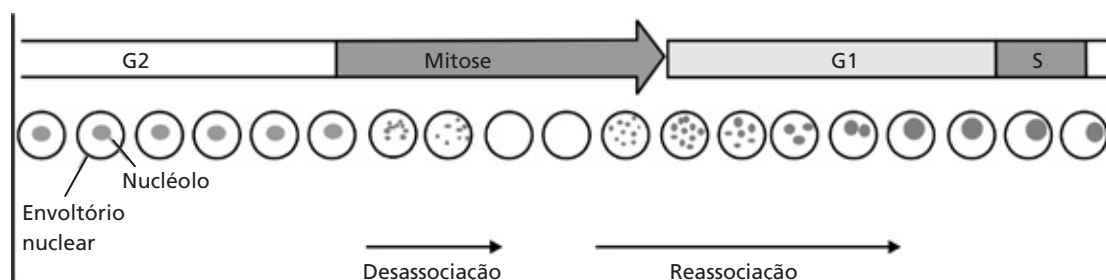


Figura 3.18: Aparência do nucléolo durante o ciclo celular.

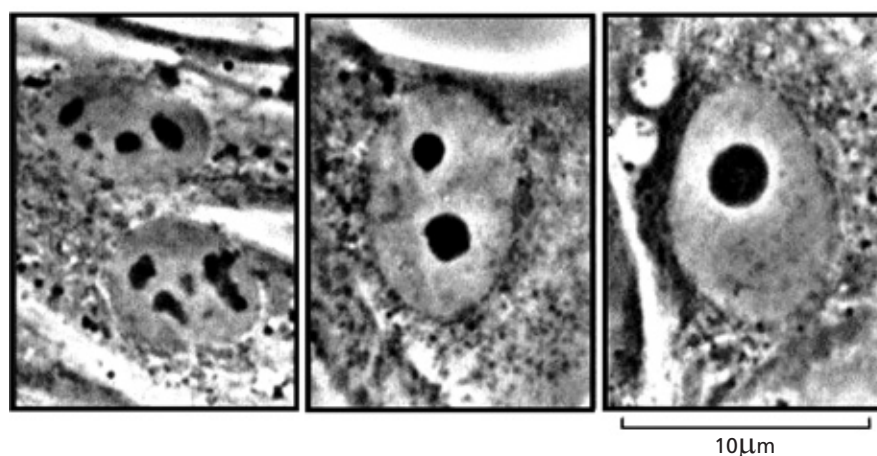
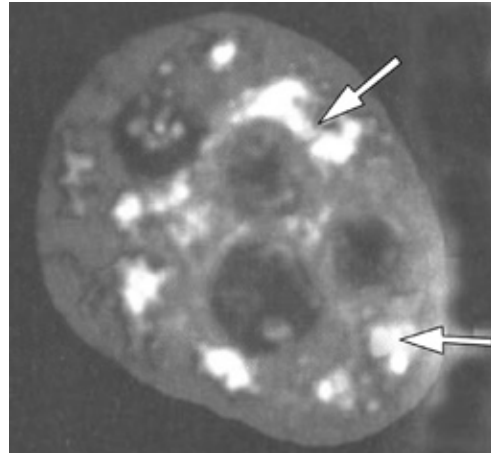


Figura 3.19: Aspecto do nucléolo visto por microscopia óptica de contraste de fase. As células da esquerda estão em final de divisão celular; a do meio, no início de G1; e a da direita, em G2. Fotos: E. G Jordan e J. McGovern.

OUTROS SUBCOMPARTIMENTOS NUCLEARES

Nos últimos anos, vários subcompartimentos nucleares foram observados. Assim como o nucléolo, eles não são envoltos por membrana. Os mais estudados são os corpúsculos nucleares, ou corpúsculos de Cajal (aquele mesmo que você conheceu como um dos descobridores do complexo de Golgi) e os grânulos de intercromatina, ou *speckles* (Figura 3.20). A função desses compartimentos ainda não está clara, mas acredita-se que sejam agrupamentos de enzimas e RNA envolvidos na transcrição e no *splicing* de RNA, respectivamente.

Figura 3.20: Imunofluorescência usando anticorpos que reconhecem diferentes subcompartimentos nucleares. As setas apontam os corpúsculos de Cajal. As regiões brancas correspondem a *speckles*. Os grandes círculos escuros correspondem ao nucléolo (essa célula está bem no início de G1). O cinza do fundo corresponde à cromatina. Foto: Judith Sleeman.



CONCLUSÃO

O ambiente nuclear é, portanto, altamente organizado, com compartimentos formados pela associação de macromoléculas que se mantêm unidas sem estarem cercadas por uma membrana. Apenas o envoltório nuclear é formado por duas bicamadas lipídicas, como veremos na próxima aula.

RESUMO

- Nos eucariotos, o genoma fica dentro de um compartimento específico, o núcleo.
- A maioria das células eucarióticas possui apenas um núcleo, mas existem células binucleadas, como alguns protozoários; multinucleadas, como as fibras musculares e células anucleadas, como os eritrócitos de mamíferos.
- A presença do núcleo faz com que os eventos de transcrição e tradução ocorram em compartimento separados, possibilitando o processamento do RNA.
- Nucleossomos são arranjos octaméricos de histonas em torno dos quais se enrola a dupla fita de DNA com cerca de 200 pares de bases. O DNA entre os nucleossomos é chamado DNA de ligação.
- A cromatina corresponde ao DNA compactado por proteínas e pode estar alternadamente na forma de eucromatina, em processo de transcrição, ou de heterocromatina, estado mais compactado em que não há transcrição.
- O nucléolo corresponde à região em que estão sendo sintetizados os ribossomos, por isso apresenta-se mais denso que o resto da eucromatina.

EXERCÍCIOS

1. Quais as vantagens evolutivas do aparecimento do núcleo?
2. Construa um esquema com a organização geral do núcleo interfásico.
3. Qual a importância da compactação do DNA?
4. O que é um nucleossomo?
5. O que é DNA de ligação?
6. Qual o papel da histona H1?
7. Diferencie eucromatina de heterocromatina.
8. O que vem a ser a heterocromatina aderida ao envoltório nuclear de células interfásicas?
9. O nucléolo é heterocromatina? Por quê?
10. Podemos dizer que os genes que codificam os ribossomos ficam todos em um mesmo cromossomo?

Transporte núcleo-citoplasma

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer a estrutura do envoltório nuclear.
- Correlacionar a estrutura do envoltório com sua dinâmica no ciclo celular.
- Conhecer a estrutura do complexo do poro.
- Conhecer as principais características do transporte entre núcleo e citoplasma.

Pré-requisitos

Compartimentalização celular (Aula 15 de Biologia Celular I).
Filamentos Intermediários (Aula 22 de Biologia Celular I).
Controle do ciclo celular (Aula 1 de Biologia Celular II).
Divisão celular (Aula 2 de Biologia Celular II).

INTRODUÇÃO

Você aprendeu na última aula que o envoltório nuclear está encarregado de estabelecer o limite físico e químico entre os ambientes nuclear e citoplasmático, além de funcionar como suporte adicional para a própria organização do genoma durante a intérfase. Seu aparecimento foi um passo evolutivo importantíssimo porque separou, espacial e temporalmente, a transcrição da tradução. Se o envoltório é muito útil durante a intérfase, em contrapartida, pode ser um estorvo durante a mitose, já que é necessário que os microtúbulos do fuso mitótico possam fazer contato com os cromossomos. Assim, na maioria dos eucariotos, o envoltório se desarranja no início da mitose, sendo novamente montado ao redor do genoma nas células-filhas. Nesta aula, vamos examinar a estrutura do envoltório nuclear, que permite a segregação entre núcleo e citoplasma, mas também promove as trocas necessárias entre os dois compartimentos, e que características do envoltório garantem que ele se reorganize corretamente nas células-filhas.

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DO ENVOLTÓRIO NUCLEAR

O envoltório nuclear (Figura 4.1), também chamado envelope nuclear ou carioteca, é formado por duas membranas concêntricas separadas pelo espaço perinuclear e sustentadas no lado nuclear por estruturas filamentosas. A seguir, descrevemos as principais características dos componentes do envoltório nuclear.

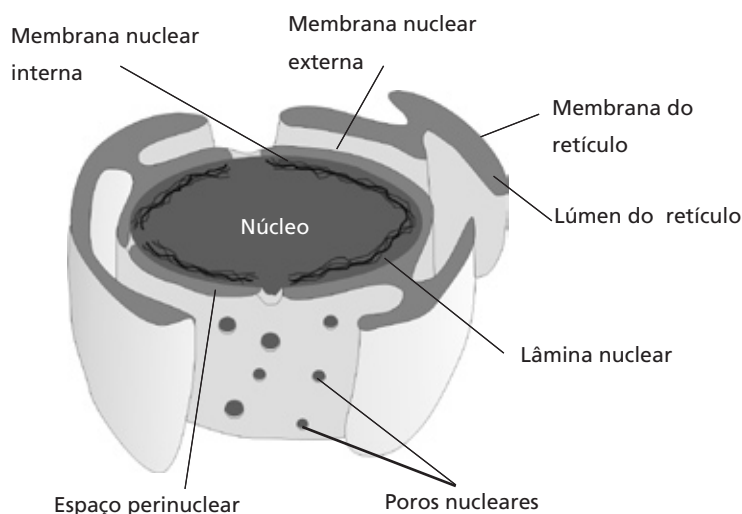


Figura 4.1: Esquema básico do compartimento nuclear, mostrando as duas membranas que formam o envelope.

Membrana nuclear externa – é contínua com o retículo endoplasmático rugoso, tendo freqüentemente ribossomos aderidos, capaz, portanto, de sintetizar proteínas.

Espaço perinuclear – é contínuo com o lúmen do retículo endoplasmático.

Membrana nuclear interna – a bicamada lipídica dessa membrana também é semelhante à do retículo endoplasmático, sendo contínua com a membrana externa em alguns pontos, porém seus lipídios e proteínas não se difundem livremente pela membrana externa e pelo retículo. Por isso, a membrana nuclear interna tem composição especial. Entre as moléculas mais importantes dessa membrana, destacam-se receptores que vão ancorar a lâmina nuclear, que está abaixo dela, e moléculas envolvidas com a homeostase de cálcio (veja box).

UM NOVO COMPARTIMENTO: O RETÍCULO NUCLEOPLASMÁTICO

Manter a concentração de cálcio baixa no citoplasma e aumentá-la repentinamente faz parte dos mecanismos de sinalização celular, como você aprendeu nas Aulas 13 e 14 de Biologia Celular I. O estoque intracelular de cálcio fica no lúmen do retículo, que o libera quando moléculas de IP₃ ligam-se a seus receptores na membrana do retículo. Muitos eventos intranucleares dependem de sinais de cálcio, mas a regulação desses sinais ainda não tinha sido descrita. Recentemente, foram observados perfis de membrana contínuos com o envelope nuclear e com o retículo endoplasmático que constituem um depósito intranuclear de cálcio (Figura 4.2).

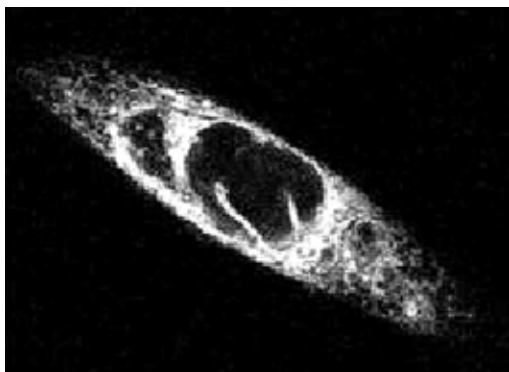
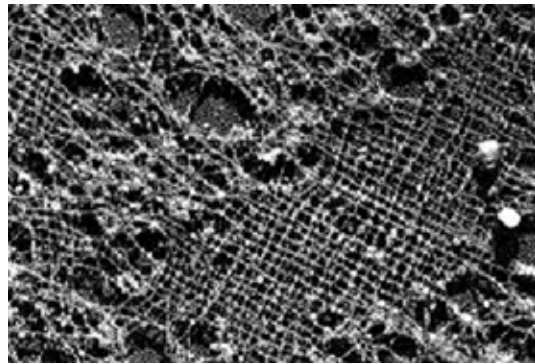


Figura 4.2: Célula epitelial marcada com um traçador fluorescente específico para retículo endoplasmático, o ER tracker. A seta aponta um segmento do retículo nucleoplasmático. (Foto: Echevaria et al., *Nature Cell Biol*, 5: 440, 2003.)

Embora seja contínuo com o retículo, a liberação do cálcio desse compartimento não é regulada pelo retículo, tendo mecanismos independentes. O novo compartimento recebeu o nome de retículo nucleoplasmático.

Lâmina nuclear – É uma rede de filamentos entrecruzados (Figura 4.3), classificados como filamentos intermediários por causa de sua espessura e características de polimerização e despolimerização (veja Aula 22 de Biologia Celular I).

Figura 4.3: Microscopia eletrônica da lâmina nuclear do ovócito de *Xenopus*, preparada por congelamento rápido e réplica. (Foto: Ueli Aebi, *J. Cell Biol.* 119:1429, 1992.)



1 μ m

TRANSFECTAR UM GENE

É colocá-lo, usando recursos de laboratório, em uma célula de outro organismo, ou mesmo em uma célula do mesmo organismo, com o objetivo de forçar sua expressão.

DELETAR UM GENE

É retirá-lo do genoma de uma célula, usando recursos de laboratório, substituindo-o por outro não relacionado, que poderá até ajudar na seleção das células que realmente tiveram o gene deletado. Já existem técnicas de laboratório que impedem que um gene seja expresso sem que seja necessário deletá-lo. Você vai aprender em Biologia Molecular.

Os filamentos da lâmina são formados por proteínas chamadas laminas (a palavra é assim mesmo, paroxítone quando se refere às proteínas e proparoxítone quando se refere ao conjunto dos filamentos). As laminas são expressas nas células de quase todos os metazoários, com exceção dos fungos e dos vegetais. Nos mamíferos existem cerca de 60 laminas, que podemos classificar em dois diferentes grupos: laminas A e B. A lâmina nuclear fica sempre logo abaixo da membrana nuclear interna, porque um de seus componentes, a lamina tipo B, está preso a esta membrana por um receptor. Já as laminas do tipo A têm afinidade pela cromatina interfásica. Veja o esquema da Figura 3.5, na aula passada.

As laminas têm um papel importante na manutenção da forma e do tamanho do núcleo. Isso ficou demonstrado com o seguinte experimento: o gene da lamina B3 de camundongo, que é expresso em espermatócitos, foi transfectado para células somáticas. Depois da transfecção, as células somáticas, cujo núcleo era arredondado, passaram a apresentar núcleo em forma de gancho, característico dos espermatócitos.

As laminas também estão envolvidas em suportar as deformações que o núcleo sofre quando empurrado pelas outras organelas. Células mutantes que tiveram os genes de laminas deletados não são mais capazes de consertar deformações do núcleo, que continua deformado até a próxima mitose.

Cromatina aderida – Existe uma camada de heterocromatina logo abaixo da lâmina que permanece associada ao envoltório nuclear durante toda a intérfase. Esse posicionamento da cromatina é importante para a própria organização do genoma e é mantido pela associação das laminas do tipo A com a cromatina.

Você pode perceber que o posicionamento dos componentes do envoltório nuclear é mantido pela interação da lâmina com a membrana interna (através das laminas tipo B) e com a cromatina aderida (através das laminas tipo A).

Complexos do poro – O envoltório nuclear possui poros estruturados que atravessam as duas membranas nucleares, constituindo, assim, uma comunicação direta entre os ambientes citossólico e nuclear (Figura 4.4).

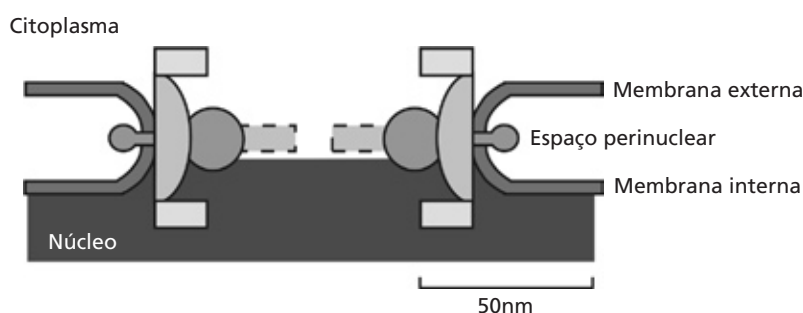


Figura 4.4: Esquema simplificado do complexo do poro. Repare que as membranas externa e interna são contínuas, mas se mantêm isoladas porque proteínas transmembrana que fazem parte da estrutura do poro bloqueiam a livre movimentação de proteínas e lipídios entre elas.

Na região dos complexos do poro a lâmina e a cromatina estão afastadas (veja as Figuras 3.4 e 3.5 na aula passada). A estrutura dos complexos do poro tem sido alvo da atenção de microscopistas eletrônicos há vários anos. O modelo desses estudos é o ovócito de *Xenopus*, por ser uma célula grande e que está sintetizando muitas proteínas, necessitando, assim, enviar grandes quantidades de mRNA para o citoplasma e importar muitas proteínas para o núcleo, para trabalhar nas etapas da transcrição e montagem de ribossomos. Já foi constatada a relação direta entre o número de complexos do poro e a intensidade da síntese de proteínas, que aumenta obrigatoriamente o transporte entre núcleo e citoplasma. Isto é, quanto maior a quantidade de proteínas sintetizadas, maior o número de complexos do poro.

O modelo que está na Figura 4.6 foi idealizado a partir de micrografias como as da Figura 4.5.

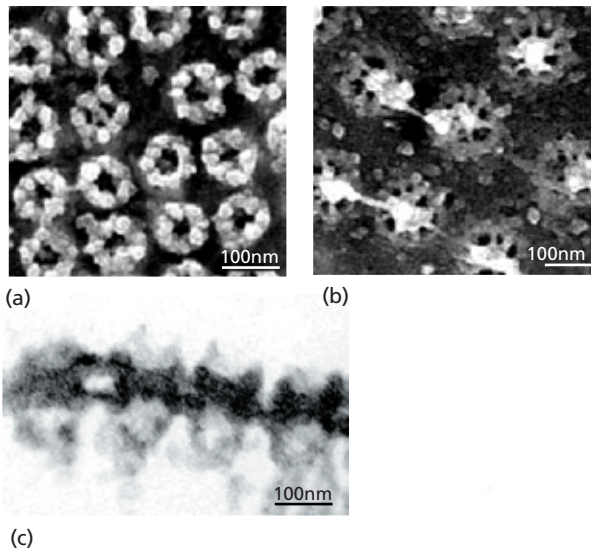
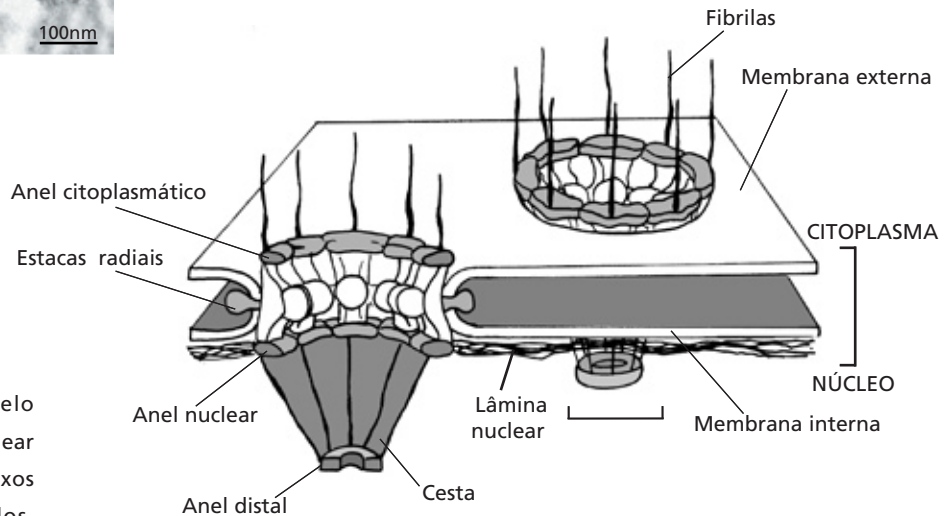


Figura 4.5: Complexos do poro preparados por congelamento rápido e réplica metálica. Em A, a face citoplasmática do envoltório nuclear, em que se pode distinguir as partículas que formam o anel citoplasmático. Em B, a face nuclear do envoltório, permitindo observar as cestas nucleares. Em C, um corte ultrafino através do envoltório nuclear em preparação convencional para microscopia eletrônica. Fotos: Fahrenkrog & Aebi, *Nature Rev Mol Cell Biol*, 4: 757, 2003.

Figura 4.6: Modelo do envoltório nuclear com dois complexos do poro inseridos.



A estrutura de cada poro é formada por três anéis: o anel citoplasmático, exposto na membrana externa; o anel nuclear, exposto na membrana interna, e um anel mediano na região do espaço perinuclear. Cada anel é formado por oito partículas. As partículas do anel mediano são transmembrana, sendo por isso chamadas estacas radiais, e formam a barreira que limita a fluidez de proteínas e lipídios entre as membranas externa e interna. Do anel citoplasmático projetam-se longas fibrilas envolvidas com o reconhecimento das moléculas que poderão atravessar o poro. Do anel nuclear, projetam-se outros filamentos que se prendem a um anel distal, parecendo uma cesta de basquete. O conjunto desses filamentos mais o anel distal é chamado cesta nuclear.

Alguns complexos do poro possuem uma partícula central (também chamada plug central), que parece obstruir a passagem. Depois que os complexos do poro foram observados por tomografia, o plug passou a ser considerado, na maioria dos casos, uma projeção do anel distal. Em algumas micrografias, no entanto, o plug realmente era formado por material (RNA ou proteína, ou ambos) em trânsito pelo poro.

Agora você há de concordar que o complexo do poro realmente merece esse nome! Em mamíferos, ele é formado por cerca de trinta cadeias protéicas, coletivamente denominadas nucleoporinas. Ainda não se conhece a função particular de cada uma delas, mas o conjunto certamente está encarregado do controle do transporte de moléculas entre núcleo e citoplasma.

TRANSPORTE ENTRE NÚCLEO E CITOPLASMA

Os complexos do poro mantêm abertas passagens diretas entre os ambientes citoplasmático e nuclear. Assim, era de se esperar que a composição dos dois compartimentos fosse semelhante, mas não é o que se observa. A estrutura do complexo sustenta uma abertura que deixaria passar livremente proteínas de até cerca de 50.000 daltons. Se examinarmos o tamanho das proteínas que funcionam dentro do núcleo, constatamos que grande parte delas é bem maior do que isso. Pensando bem, qualquer molécula de mRNA que precise sair do núcleo tem massa maior do que 50.000 daltons. Pensando ainda melhor, uma subunidade ribossomal saindo do núcleo é maior ainda! Em contrapartida, existem proteínas citoplasmáticas menores do que 50.000 daltons que deveriam transitar sem dificuldade entre os dois ambientes, como os monômeros de actina, por exemplo. No entanto, a actina nunca é encontrada dentro do núcleo.

Portanto, é evidente que existem mecanismos de transporte especializados, tanto para promover a passagem de moléculas maiores do que o poro quanto para evitar a passagem de moléculas menores.

Ainda há muitos mistérios sobre esse assunto, mas algumas características desse transporte foram descobertas experimentalmente.

Foi escolhido como modelo de estudo o transporte da proteína nucleoplasmina, já que ela funciona exclusivamente no núcleo e é grande

demais para passar pelo complexo do poro por difusão. A proteína íntegra ou parcialmente digerida foi marcada com fluorocromo, microinjetada no citoplasma e observada em microscópio de fluorescência (Figura 4.7).

A nucleoplasmina é formada por vários domínios, uma cabeça globular e várias caudas lineares, iguais entre si. Quando essa proteína é injetada no citoplasma de uma célula interfásica, em poucos minutos de incubação ela entra no núcleo. Se a nucleoplasmina for submetida a uma digestão com enzimas proteolíticas, de modo a separar a cabeça das caudas, e depois estas forem injetadas separadamente, observa-se que as cabeças permanecem no citoplasma, enquanto as caudas entram no núcleo. Esse experimento mostrou que as caudas da nucleoplasmina possuem algum sinal específico que permite a entrada no núcleo.

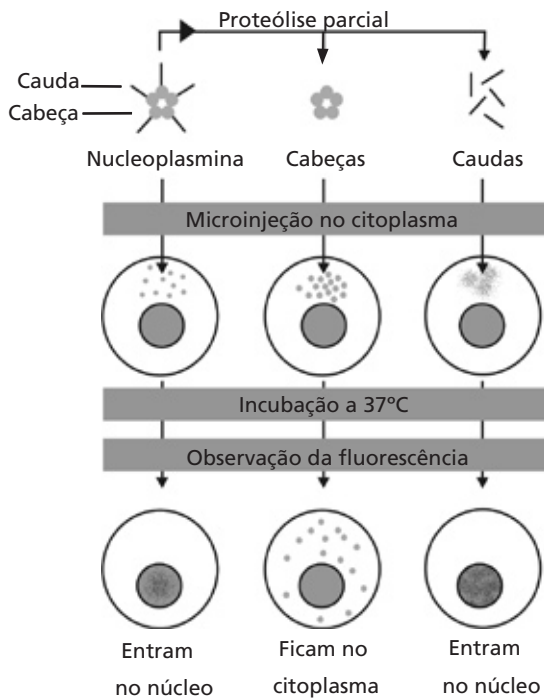


Figura 4.7: Experimento realizado com a nucleoplasmina para estudar as características do transporte de uma proteína entre o núcleo e o citoplasma.

Os experimentos seguintes procuraram determinar qual era a menor sequência de aminoácidos contida nas caudas da nucleoplasmina necessária e suficiente para a entrada no núcleo. Assim se chegou à sequência de localização nuclear (NLS – nuclear localization sequence), uma sequência reconhecida no envoltório nuclear para permitir a entrada no núcleo. Do ponto de vista molecular, houve surpresas: a) em cada proteína nuclear estudada havia variações na sequência; assim, não se pôde apontar uma sequência de localização nuclear, mas várias possíveis com

características comuns; b) a seqüência não está na ponta da cadeia, como as seqüências já conhecidas para entrada no retículo endoplasmático (a primeira seqüência sinal descoberta, lembra? Se não, reveja a Aula 16 de Biologia Celular I) ou nas mitocôndrias; portanto, não pode ser cortada depois da entrada no núcleo. Essa característica teria alguma importância? Muita importância! Espere só um pouquinho que você já vai ver!

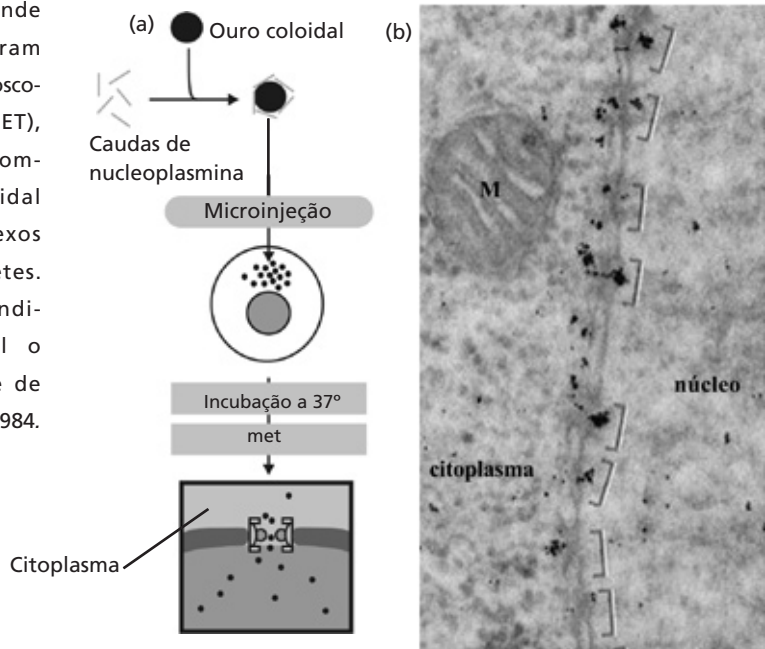
Muitos anos depois, experimentos semelhantes ao da nucleoplasmina foram feitos com a actina: o gene que codifica para essa proteína foi manipulado, resultando em vários genes modificados, cada um codificando actina sem uma parte da cadeia. Os vários genes foram transfectados em células diferentes e observou-se em qual delas a actina conseguia entrar no núcleo. Na única célula em que a actina foi encontrada no núcleo, observou-se que o gene transfectado correspondia a uma actina sem a seqüência de aminoácidos que especificamente era excluída do ambiente nuclear, definindo, assim, a primeira seqüência de exclusão nuclear (NES - nuclear exclusion sequence). Ainda continuam sendo assunto de investigação se a seqüência de exclusão também está presente em outras proteínas e o significado biológico dessa descoberta.

Você também já deve estar curioso para saber como, com aquela morfologia do complexo do poro, as proteínas entram no núcleo. Esta também é uma dúvida dos biólogos celulares: será que as proteínas passavam mesmo pelos complexos do poro? Só por eles? Passavam com a conformação nativa ou eram desenoveladas? Se não desenovelam, os poros dilatam? Esse transporte gasta energia? Precisa de proteínas auxiliares? Calma! Uma pergunta de cada vez! Vamos lá!

As proteínas nucleares passam pelos complexos do poro?

A passagem de proteínas só ocorre através dos complexos do poro. Isso foi demonstrado acoplando a nucleoplasmina com partículas de ouro coloidal e observando essas células ao microscópio eletrônico de transmissão (Figura 4.8).

Figura 4.8: Em a, o experimento realizado para determinar por onde passam as proteínas que entram no núcleo; em b, o resultado em microscopia eletrônica de transmissão (MET), onde podemos ver que os complexos proteína-ouro coloidal passam apenas pelos complexos do poro, delimitados por colchetes. Note a mitocôndria (M) indicando de modo inequívoco o lado citoplasmático. A foto b é de Feldherr *et al. J Cell Biol*, 99: 216, 1984.



Esses experimentos responderam ainda a outras perguntas: o acoplamento com ouro coloidal impede que as proteínas mudem de conformação; assim, ficou demonstrado que as proteínas atravessam o complexo do poro em sua conformação nativa. Aliás, se você estava imaginando como uma proteína maior do que o diâmetro do poro pode atravessá-lo, repare (Figura 4.8.a) que, no acoplamento com ouro coloidal, várias proteínas se associam a uma mesma partícula (o tamanho da partícula de ouro usada no experimento era de 10nm). Portanto, várias proteínas e mais uma partícula de 10nm passam ao mesmo tempo pelo poro!

E a saída do mRNA?

Para estudar o transporte de mRNA, foram realizados experimentos equivalentes aos realizados com proteínas nucleares, já esquematizados na Figura 4.8. Partículas de ouro coloidal foram acopladas a moléculas de mRNA e microinjetadas no núcleo de uma célula. Depois de alguns minutos de incubação a 37°C, a preparação foi fixada, processada, e observada em microscópio eletrônico de transmissão. O resultado é que as moléculas de mRNA saem do núcleo exclusivamente através de complexos do poro.

Entrou por uma porta, saiu pela outra?

Será que existem complexos do poro só para a entrada de proteínas e outros só para saída de mRNA? Essa pergunta só pôde ser respondida quando proteínas e mRNA foram acoplados a partículas de ouro de tamanhos diferentes, às proteínas com ouro de 10nm e aos mRNA com ouro de 20nm. Os complexos proteína-ouro foram injetados no citoplasma, enquanto os complexos mRNA-ouro foram injetados no núcleo da mesma célula, que depois de processada foi observada ao microscópio. Advinha o resultado? Foram observadas partículas de 10nm entrando e partículas de 20nm saindo pelos mesmos poros! Assim foi demonstrado que os complexos do poro são competentes tanto para transportar proteína do citoplasma para o núcleo quanto mRNA do núcleo para o citoplasma, isto é, na direção oposta.

Agora nós tocamos num ponto chave quando se trata do transporte entre núcleo e citoplasma: direção. A direção exclusiva é uma das principais características desse transporte: as moléculas de mRNA só saem do núcleo, enquanto as proteínas que têm a seqüência de localização nuclear só entram (por isso você vai encontrar em alguns textos que o transporte entre núcleo e citoplasma é vetorial, isto é, tem direção e sentido). Se você pensou na biogênese dos ribossomos, em que proteínas são sintetizadas no citoplasma, entram no núcleo e depois saem para o citoplasma, lembre que antes de retornar ao citoplasma elas se associaram a moléculas de RNA, formando ribonucleoproteínas, que têm características de transporte especiais.

O transporte entre núcleo e citoplasma consome energia?

Para responder a essa pergunta, foi feito um experimento muito semelhante ao descrito na Figura 4.7, mas em vez de incubar a preparação a 37°C, a incubação foi feita a 4°C. Nessa situação, a nucleoplasmina não entrava no núcleo, ou entrava tão devagar que tornava o experimento difícil de observar. O passo seguinte foi fazer a microinjeção de nucleoplasmina em células que tinham sido depletadas de ATP (Figura 4.9). O resultado foi a retenção da proteína no envoltório nuclear. Esse experimento levou à idéia de que o transporte entre núcleo e citoplasma tem duas etapas: reconhecimento, independente

DEPLETAR

Diminuir,
extinguir, no caso,
o estoque celular
de ATP.

de ATP, e translocação, dependente de ATP. Curiosamente, a depleção de ATP não bloqueou a saída RNA do núcleo para o citoplasma, o que só foi compreendido anos depois (se os pesquisadores esperaram anos, você pode esperar um pouquinho, né?).

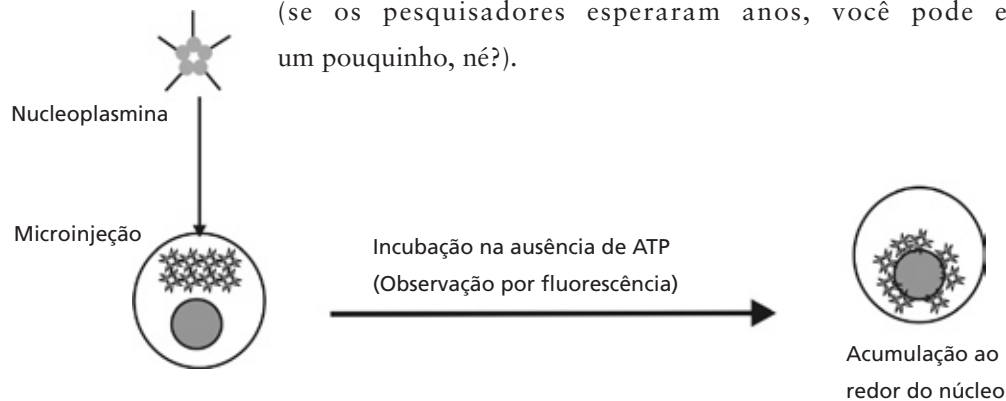


Figura 4.9: O transporte de proteína do núcleo para o citoplasma não ocorre na ausência de ATP. A proteína se associa ao envoltório, mas não é translocada.

A etapa de reconhecimento das proteínas que serão transportadas para o núcleo certamente envolve receptores que reconhecem as seqüências de localização nuclear. A identidade exata dos receptores ainda não foi determinada, mas há indícios de que eles estejam localizados nas fibrilas que se projetam do anel citoplasmático do complexo do poro (Figura 4.6). Depois do reconhecimento, a acomodação da proteína na abertura do canal inicia a etapa de translocação.

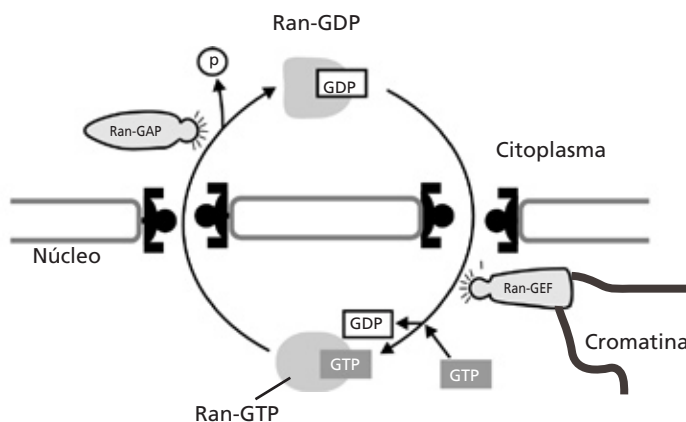
Não era bem assim

Recentemente, novos experimentos mostraram que o nucleotídeo envolvido no transporte do núcleo para o citoplasma não é o ATP diretamente, e sim o GTP. A entrada de proteínas no núcleo, e também a saída de RNA, dependem da associação dessas moléculas com co-fatores que ligam e hidrolisam GTP. Como a recomposição do estoque citoplasmático de GTP depende da produção de ATP (e transferência do fosfato do ATP para GDP na mitocôndria, relembre na Aula 27 de Biologia Celular I), o bloqueio do transporte na ausência de ATP fica explicado.

O bichinho do Ran-ran

Ran, a GTPase envolvida no transporte entre núcleo e citoplasma, pertence à mesma família de GTPases monoméricas cujo representante mais famoso é Ras, que atua na sinalização celular (Aula 14 de Biologia Celular I), e que também abriga as Rab, que trabalham no controle do tráfego intracelular de vesículas (Aula 25 de Biologia Celular I). Como todas as GTPases, Ran pode estar ligada a GTP ou a GDP. A forma Ran-GDP é mais abundante no citoplasma e a forma Ran-GTP é mais abundante no núcleo. Essa distribuição é consequência da ação de outras proteínas sobre as Ran (Figura 4.10). No citoplasma existem proteínas que estimulam a atividade enzimática de Ran, fazendo com que ela hidrolise o GTP, enquanto no núcleo proteínas associadas à cromatina roubam o GDP de Ran, que logo é substituído por GTP. Supõe-se que Ran-GTP tenha tendência a sair do núcleo, enquanto Ran-GDP tenha tendência a entrar.

Figura 4.10: O ciclo de Ran entre o citoplasma e o núcleo.



Mais personagens: vou entrar, você se importa?

Outra descoberta recente é que as seqüências de localização nuclear, no citoplasma, e de exclusão nuclear, no núcleo, não são reconhecidas diretamente pelos componentes do complexo do poro e sim por receptores de transporte. O complexo formado pelas proteínas a serem transportadas (carga) mais os receptores de transporte é que é reconhecido no poro e transportado. Os receptores de transporte são proteínas chamadas, coletivamente, carioferinas ou importinas (reconhecem as NLS no citoplasma e são importadas) e exportinas (reconhecem as NES no núcleo e são exportadas). Veja na Figura 4.11 como Ran e importina funcionam em conjunto.

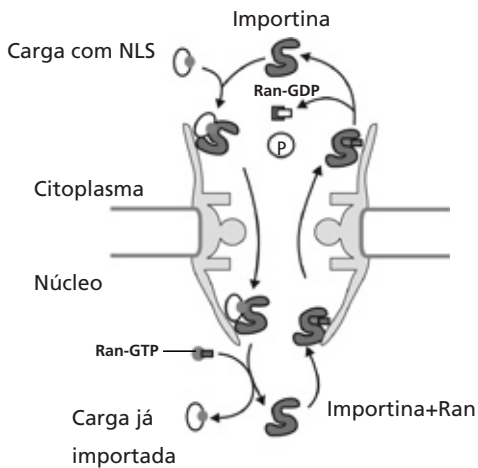


Figura 4.11: Uma proteína no citoplasma (carga) que tenha a seqüência de localização nuclear (NLS) acopla-se a uma importina e o conjunto é reconhecido pelo complexo do poro e translocado. Já no núcleo, a proteína é liberada porque a importina tem mais afinidade pela Ran-GTP, liga-se a ela e saem juntas para o citoplasma. Lá chegando, Ran hidrolisa o GTP e se solta da importina, que está pronta a reconhecer outra carga.

Supõe-se que a exclusão de uma carga do núcleo funcione do mesmo modo (Figura 4.12).

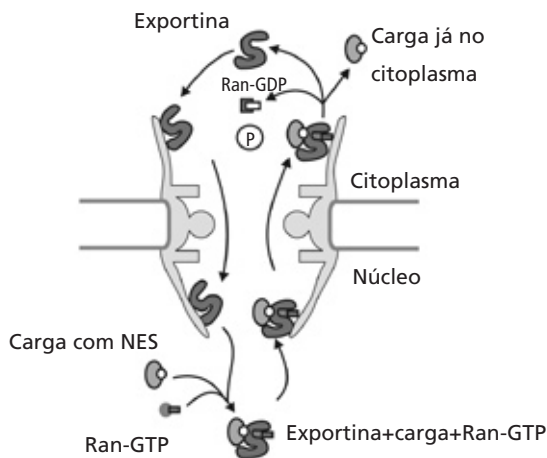


Figura 4.12: Uma carga com seqüência de exclusão nuclear (NES) que esteja dentro do núcleo acopla-se à exportina e à Ran-GTP. No citoplasma, a Ran-GTP se hidrolisa e se solta da exportina, que está pronta a reconhecer outra carga.

Divisão celular: apertem os cintos, o envoltório sumiu!

Você viu como o envoltório nuclear é bem estruturado e o trabalho que dá para transportar proteínas entre os ambientes citoplasmático e nuclear. Mas não esqueça que toda essa organização só vale durante a intérfase! Quando as células iniciam a fase M, na maioria delas o envoltório se desarranja e só volta a se organizar ao final do processo, já nas células-filhas. Se o envoltório se desarranja, não há mais separação entre os ambientes nuclear e citoplasmático e seus componentes se misturam.

O desmonte do envoltório nuclear é disparado pelo complexo MPF (veja na Aula 1), que nessa ocasião fosforila muitos substratos, entre eles as proteínas que vão compactar a cromatina, outras que vão despolimerizar microtúbulos, fragmentar o retículo endoplasmático e também as membranas que formam o envoltório nuclear, que vesiculam. As laminas também são substrato para as quinases da fase M e, como todos os filamentos intermediários quando são fosforilados, despolimerizam. As laminas do tipo A ficam solúveis no citoplasma, mas as laminas do tipo B continuam presas ao seu receptor nas vesículas de membrana nuclear interna. Alguns componentes do complexo do poro também são fosforilados e o conjunto se desassocia (Figura 4.13).

VESICULAÇÃO

A vesiculação de um compartimento é diferente do brotamento. A vesiculação é um processo mais dramático, no qual TODO o compartimento se fragmenta, formando inúmeras vesículas.

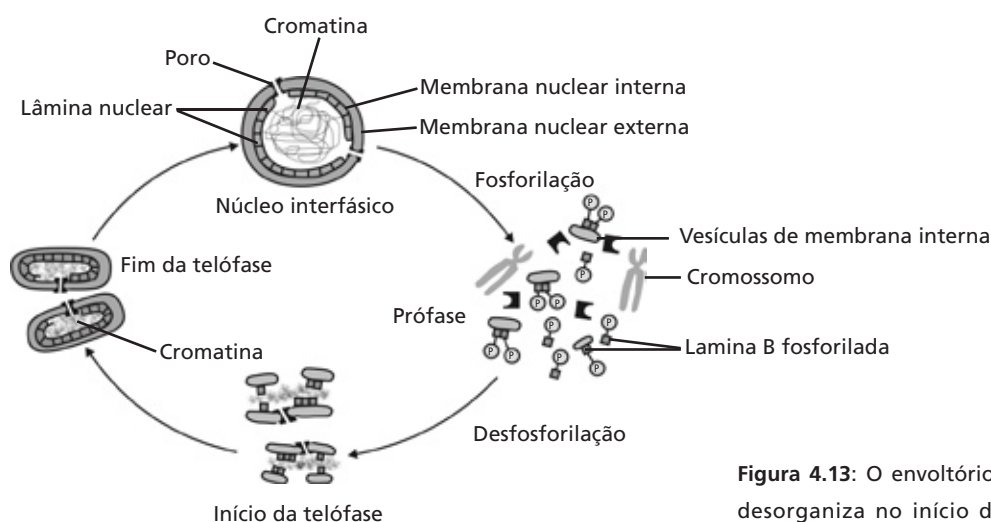


Figura 4.13: O envoltório nuclear se desorganiza no início da mitose e se reorganiza ao final do processo.

REORGANIZANDO O ENVOLTÓRIO NUCLEAR

Ao final da mitose, são ativadas fosfatases que desfosforilam os substratos que foram alvo do MPF no início do processo.

Com a desfosforilação, a cromatina volta a descompactar, tornando a expor os sítios de afinidade por laminas do tipo A e por proteínas da membrana nuclear interna. Nesse mesmo período, as laminas desfosforiladas voltam a polimerizar a lâmina, não em qualquer lugar, mas exatamente em volta do genoma das células-filhas porque têm afinidade pela cromatina que está descompactando. Ao se incorporar ao polímero, as laminas do tipo B ajudam a aproximar as vesículas de membrana interna onde estão presas.

A incorporação dos componentes do complexo do poro ao envoltório é um fenômeno ainda menos conhecido. Durante muito tempo se supôs até que os complexos do poro permaneciam íntegros durante a mitose. Hoje, já se sabe que os complexos do poro se desorganizam e que alguns de seus componentes têm afinidade pela própria cromatina. Alguns pesquisadores formularam a hipótese de que os componentes do complexo do poro podem mesmo ajudar na reorganização do próprio envoltório.

E agora? Salve-se quem puder!

Depois que o envoltório nuclear se reestruturou nas células-filhas, os ambientes nuclear e citoplasmático voltam a se separar. E as proteínas que estavam no núcleo antes da mitose? Será que conseguiram correr para dentro do núcleo das células-filhas antes que o envoltório se fechasse? E se não conseguirem, serão degradadas? Que desperdício!

Mas espere aí! Elas não tinham mantido a seqüência de localização nuclear (NLS) porque esta ficava no meio da cadeia? Puxa, que alívio! Então é só usar a NLS e passar por um complexo do poro de novo!

CONCLUSÃO

Vimos que o envoltório nuclear é uma estrutura altamente complexa e dinâmica. Os complexos do poro regulam a passagem de proteínas do citoplasma para o núcleo e dos mRNA na direção oposta.

Como em muitas células, o envoltório se desorganiza durante a mitose, proteínas de localização nuclear ficam dispersas no citoplasma durante essa fase, mas são capazes de reentrar no núcleo (de uma das células-filhas) passando através de um complexo de poro graças à presença de uma seqüência de localização nuclear (NLS) no meio de sua cadeia peptídica.

RESUMO

- O envoltório nuclear é formado por duas membranas concêntricas separadas pelo espaço perinuclear e sustentadas no lado nuclear pela lâmina nuclear.
- Os filamentos da lâmina são formados por proteínas chamadas laminas. As laminas têm um papel importante na manutenção da forma e do tamanho do núcleo.
- O envoltório nuclear possui complexos do poro estruturados que atravessam as duas membranas nucleares, estabelecendo uma comunicação direta entre os ambientes citossólico e nuclear.
- A estrutura de cada poro é formada por três anéis (citoplasmático, mediano e nuclear), longas fibrilas envolvidas com o reconhecimento das moléculas que poderão atravessar o poro e outros filamentos que se prendem ao anel distal, formando a cesta nuclear.
- Os complexos do poro mantêm abertas passagens diretas entre os ambientes citoplasmático e nuclear. Existem mecanismos de transporte especializados, tanto para promover a passagem de moléculas maiores do que o poro quanto para barrar a passagem de moléculas menores.
- A sequência de localização nuclear (NLS) corresponde à menor sequência de aminoácidos necessária e suficiente para a entrada no núcleo. Entretanto, em cada proteína nuclear, há variações na sequência e esta não está na ponta da cadeia.
- Proteínas de localização citoplasmática, como a actina, possuem uma sequência de exclusão nuclear (NES).
- As proteínas atravessam o complexo do poro em sua conformação nativa. Os mesmos poros são utilizados para a entrada de proteínas e a saída de RNA.
- A entrada de proteínas no núcleo e também a saída de RNA dependem de GTP e de sua associação com co-fatores – as carioferinas e as Ran – que respectivamente ligam e hidrolisam o GTP.
- Durante a mitose, a fosforilação de laminas e proteínas do complexo do poro leva ao desmonte do envoltório nuclear: as laminas do tipo A ficam solúveis no citoplasma, mas as do tipo B continuam presas ao seu receptor nas vesículas de membrana nuclear interna. O complexo do poro também se desassocia.
- A recomposição do envoltório nuclear depende da desfosforilação das proteínas envolvidas. As proteínas de localização nuclear são reconduzidas ao novo compartimento nuclear graças às sequências NLS.

EXERCÍCIOS

1. Quais são os componentes do envoltório nuclear?
2. Quais são as características da membrana nuclear externa?
3. Quais são as características da membrana nuclear interna?
4. O que é lâmina nuclear? Qual a sua função?
5. O que são complexos do poro?
6. O que é sequência de localização nuclear?
7. Por onde as proteínas que têm sequência de localização nuclear entram no núcleo?
8. Por onde as moléculas de mRNA saem do núcleo?
9. Por que se pode dizer que o transporte entre núcleo e citoplasma é vetorial?
10. O transporte entre núcleo e citoplasma consome energia?

Junções celulares 1: Junções ocludentes

AULA 5

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer a importância e a necessidade da formação de junções entre as células.
- Entender o papel das junções oclusivas (*tight*) para separação de compartimentos e formação de domínios de membrana.
- Transporte paracelular e transcelular.

Pré-requisitos

Aulas 7, 8, 9 e 12 (Biologia Celular I).

INTRODUÇÃO

Os organismos pluricelulares não são simples aglomerados de células coladas umas às outras. Neles, as células se organizam em tecidos e estes em órgãos. Duas “soluções” foram desenvolvidas para manter as células de um tecido “coladas” (**Figura 5.1**): a primeira está bem representada nos tecidos epiteliais, em que as células se encontram justapostas e quase não há espaço entre elas; essas células permanecem unidas graças a **junções** existentes entre elas ou entre uma célula e a lâmina basal. No outro extremo está o tecido conjuntivo, no qual as células estão esparsamente distribuídas, havendo entre elas uma matriz rica em polímeros fibrosos que sustenta o tecido, a **matriz extracelular**, que será abordada em outra aula.

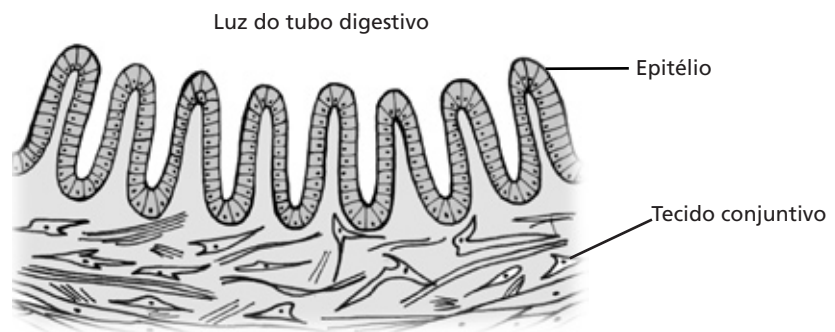


Figura 5.1: Ao formar um epitélio, como o do tubo digestivo, as células permanecem justapostas com pouco ou nenhum espaço entre elas, formando uma superfície contínua. Nos tecidos conjuntivos, localizados abaixo do epitélio, as células se apresentam dispersas em uma matriz extracelular, secretada por elas mesmas.

O QUE SÃO JUNÇÕES

Num epitélio, o espaço entre as células vizinhas precisa estar bem selado, impedindo que o fluido extracelular extravase. Também é importante que a união entre essas células suporte tensões sem se romper. Por último, já que as células de um tecido atuam de modo integrado, é importante que haja comunicação e cooperação metabólica entre elas. As junções celulares são áreas especializadas da membrana plasmática que são classificadas em três grupos, de acordo com a função que desempenham: **junções ocludentes**, **junções aderentes** ou de **ancoragem** e **junções comunicantes**.



Junções, como e por quê?

Os epitélios, que revestem os diversos órgãos, e os endotélios, que revestem a parede dos vasos sanguíneos, são os melhores modelos para estudo dessas junções. Por quê? Porque as células que constituem esses tecidos dependem das junções aderentes para se manterem unidas umas às outras. Da mesma forma, cabe aos epitélios formar um revestimento contínuo, impedindo o vazamento de substâncias e fluidos do meio extracelular para o intracelular e vice-versa. Essa função é desempenhada pelas junções ocludentes ou oclusivas. Finalmente, o bom funcionamento de um tecido depende da cooperação e sincronia entre as células que o constituem, sendo, portanto, necessária a comunicação entre elas. Essa comunicação se dá pelas junções comunicantes.

JUNÇÕES OCLUDENTES

Nesta aula, vamos nos deter no estudo das junções ocludentes, também chamadas *tight* (apertadas, em inglês). Quando determinadas substâncias eletrondensas (que barram a passagem do feixe de elétrons do microscópio eletrônico) eram injetadas na superfície basal de um epitélio, observava-se que o corante penetrava por entre as células até determinado ponto. Nessa região, a distância entre as membranas das duas células era menor, o que poderia explicar a barreira à passagem do corante (**Figura 5.2**). Quando o corante era injetado na superfície apical do epitélio, ele descia até o mesmo ponto e também ficava retido, ou seja, as junções *tight* formavam em torno das células um cinturão que impedia o vazamento de fluidos e solutos entre elas. É muito importante que a passagem de substâncias por entre as células seja barrada, pois isso, a princípio, obriga praticamente todas as substâncias presentes no tubo digestivo a passar pelo processo seletivo de permeabilidade da bicamada lipídica, ou pelas proteínas transportadoras (Aulas 7 a 12 de Biologia Celular I). Essa passagem de substâncias através das células é chamada transporte **transcelular**, enquanto a passagem por entre as células tem o nome de transporte **paracelular**.

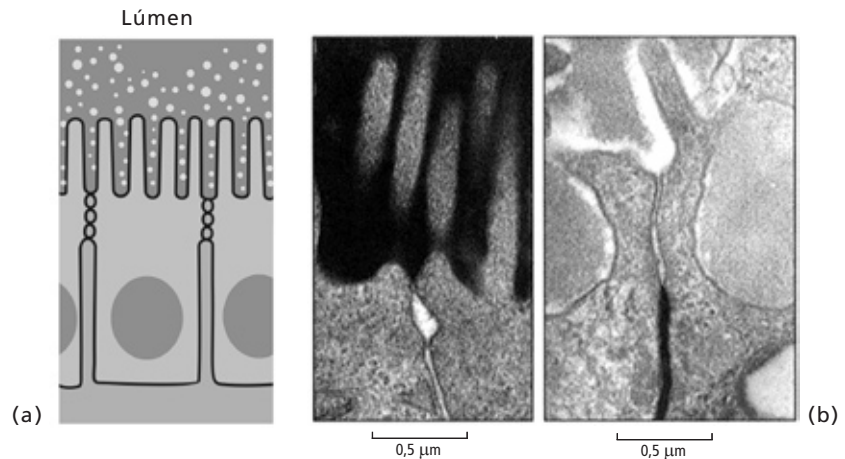


Figura 5.2: (a) As junções ocludentes formam um cinturão que impede a passagem de substâncias por entre as células. Em (b) vemos duas micrografias eletrônicas mostrando que não importa se a substância é injetada na parte apical ou na basal do epitélio, a junção ocludente forma um cinturão que impede o seu extravasamento para o outro lado do epitélio. (Fotos: Daniel Friend)

Quando as células puderam ser observadas pela técnica da criofratura (Aula 3 de Biologia Celular I), ficou mais fácil entender como as junções ocludentes se organizavam e funcionavam. Na região onde as membranas de duas células vizinhas se aproximavam, existem proteínas transmembrana que formam verdadeiros labirintos em ambas, entrecruzando-se e formando uma espécie de costura entre as duas membranas, o que impede a passagem de substâncias nesses pontos (Figura 5.3).

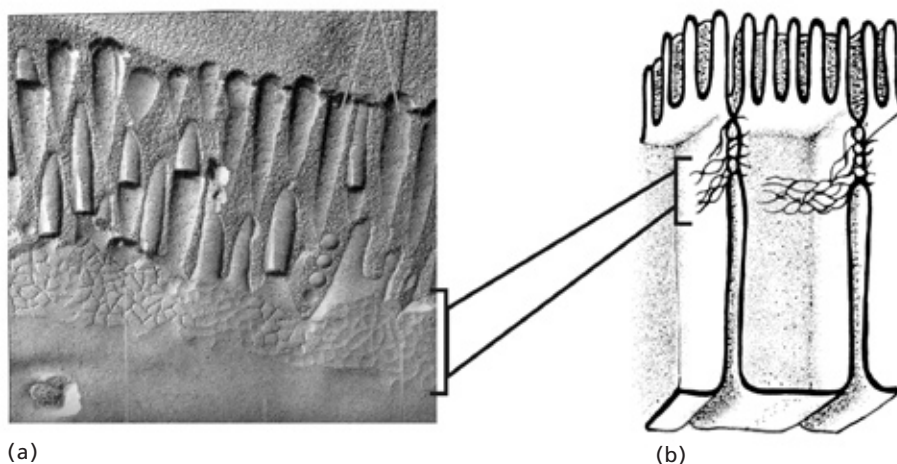


Figura 5.3: Em (a), uma imagem da membrana de uma célula epitelial onde se vêem as microvilosidades da porção apical e as linhas formadas pelas partículas intramembranas que selam o espaço entre duas células, conforme esquematizado em (b).

AS JUNÇÕES OCLUDENTES CONSTITUEM UMA BARREIRA À FLUIDEZ DE PROTEÍNAS DA MEMBRANA

As proteínas que formam as junções de oclusão, por estarem ligadas umas às outras, formando fileiras, e a proteínas correspondentes na membrana da célula adjacente (Figura 5.4), não apenas não se movem livremente no plano da bicamada lipídica em que se inserem como também não permitem que proteínas inseridas na porção apical da membrana plasmática passem para a porção basolateral da célula, e vice-versa.

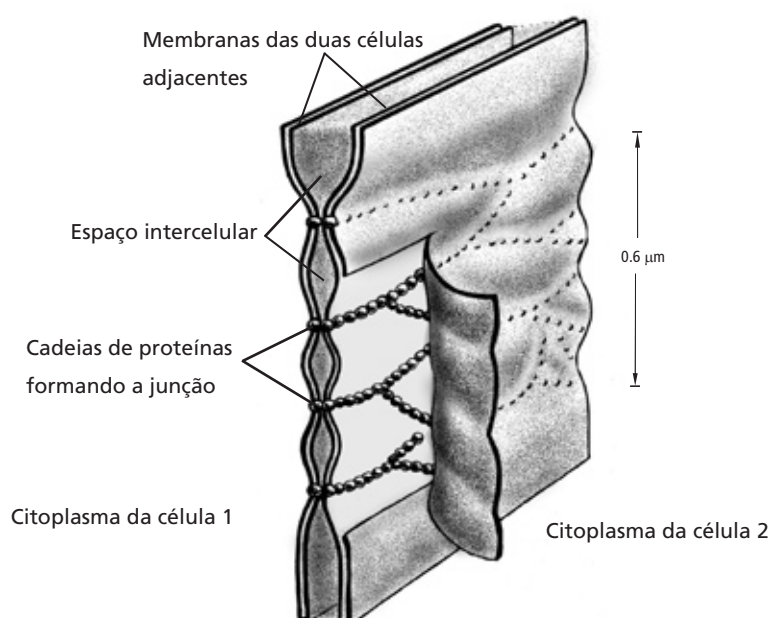


Figura 5.4: As proteínas que formam a junção de oclusão formam cadeias que se ligam a cadeias semelhantes na membrana adjacente. Isso limita a mobilidade dessas proteínas no plano da membrana e também impede que outras proteínas ultrapassem essa barreira.

Assim, as junções ocludentes formam uma **barreira** na membrana plasmática. As porções de membrana (apical e basolateral) que ficam separadas por essa barreira constituem diferentes **domínios** da membrana (Figura 5.5).

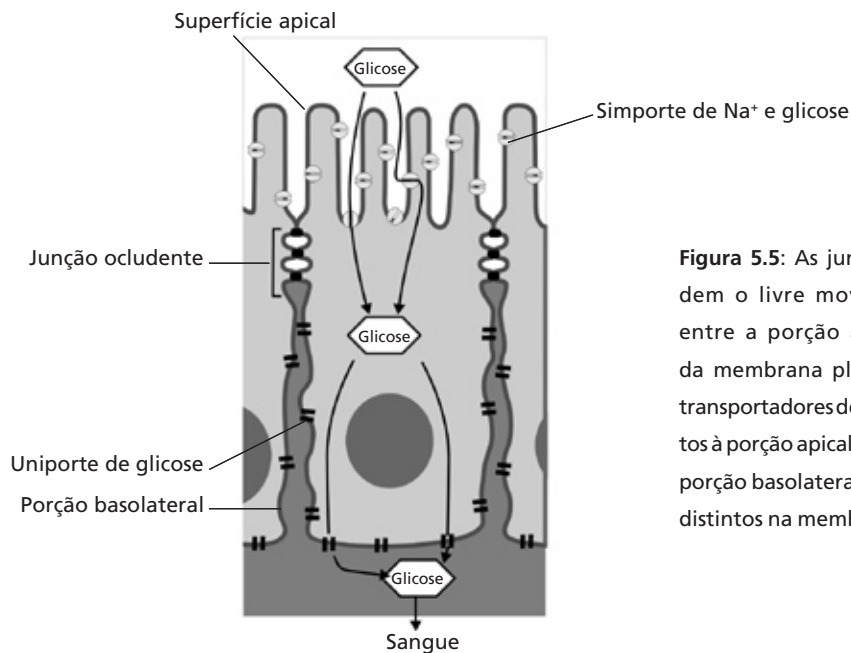


Figura 5.5: As junções de oclusão impedem o livre movimento de proteínas entre a porção apical e a basolateral da membrana plasmática. Com isso, os transportadores de Na⁺-glicose ficam restritos à porção apical e o uniporte de glicose à porção basolateral, criando dois domínios distintos na membrana desse tipo celular.

Você deve estar achando a **Figura 5.5** familiar, e tem razão! Quando estudamos transporte através da membrana (Aulas 8 a 12 de Biologia Celular I), vimos que o transporte de glicose na porção basolateral do epitélio intestinal era feito por uniporte e na porção apical por simporte com o sódio. Sugerimos que você volte a consultar essas aulas para reforçar como é fundamental para o correto funcionamento do organismo que esses dois domínios de membrana sejam mantidos.

Não são apenas os transportadores de glicose que tornam diferentes os dois domínios de membrana do epitélio intestinal, outras proteínas também se distribuem de maneira diferente e, como você pode observar nos esquemas e micrografias, apenas a superfície apical possui microvilosidades. O fenômeno de uma célula como a epitelial apresentar diferenças entre uma região e outra é chamado **polarização tecidual**, e essas células são ditas **polarizadas**.

QUE PROTEÍNAS EXISTEM NAS JUNÇÕES DE OCLUSÃO?

Até o presente momento, já foram caracterizados três tipos de proteínas formando as junções de oclusão: as **claudinas**, as **occludinas** e as moléculas de adesão juncional – **JAM**. Pouco se conhece sobre as funções das moléculas **JAM**.

As claudinas são suficientes e altamente necessárias para a formação das junções *tight* e constituem uma família de mais de 20 proteínas. A claudina-5, por exemplo, é predominantemente expressa em junções *tight* de células endoteliais. Contudo, a maioria dos órgãos e tecidos possuem junções *tight* apresentando mais de um tipo de claudinas que podem interagir com claudinas da célula vizinha de forma *homofílica* (interação entre claudinas do mesmo tipo) e algumas claudinas podem realizar adesões *heterofílicas* (interação entre claudinas de tipos diferentes). Essa heterogeneidade de claudinas expressas em diferentes tecidos é responsável pela diferença de permeabilidade e seletividade paracelular dos diferentes órgãos e tecidos (**Figura 5.6**).

Já as occludinas não possuem um papel tão fundamental para a formação das junções *tight* como as claudinas. Estudos realizados até o momento classificam as occludinas como componentes facultativos das junções *tight*, uma vez que a sua deleção ou ausência em algumas junções *tight* não interferiram nem com a formação, nem com a função da barreira. As occludinas são capazes de realizar somente a interação homofílica com occludinas da célula vizinha (**Figura 5.6**).

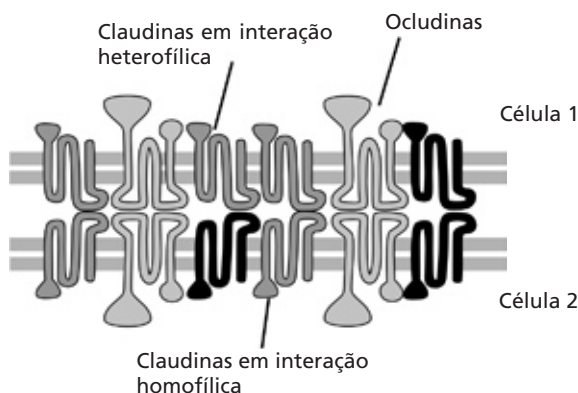


Figura 5.6: As claudinas e as occludinas são as principais proteínas formadoras de junções de oclusão. Enquanto duas claudinas de tipos diferentes podem se reconhecer e se ligar, apenas duas occludinas idênticas se reconhecem.

QUANDO A BARREIRA É ROMPIDA

As junções *tight* têm como principal papel fazer com que as células epiteliais constituam um revestimento contínuo que limite dois ambientes. É fácil entender isso quando pensamos no conteúdo do intestino e da bexiga e quais as conseqüências para o resto do organismo se houver *vazamento* (transporte paracelular) por entre as células para o interior do organismo.

Entretanto, as células do epitélio intestinal são capazes de abrir transitoriamente as suas junções oclusivas. Isso permite a rápida absorção (via transporte paracelular) de uma grande quantidade de aminoácidos e monossacarídeos recém-digeridos. Nesse momento, o gradiente de concentração favorece a entrada dessas substâncias (Figura 5.7). Isso demonstra que:

1. essa barreira é variável e fisiologicamente regulada;
2. é importante que existam proteínas de oclusão diferentes em diferentes tipos de epitélio, pois num tecido como o epitélio da bexiga a passagem paracelular de conteúdo seria um enorme desastre.

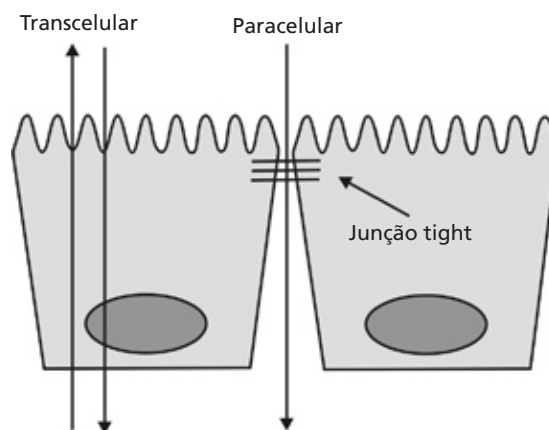


Figura 5.7: Esquema das vias de transporte transcelular e paracelular. Este último, quando acontece, sempre obedece ao gradiente de concentração das moléculas envolvidas.

DOMÍNIOS E BARREIRAS EM OUTROS EPITÉLIOS

Outro exemplo que demonstra a importância da existência de diferentes domínios (apical e basolateral) nas células epiteliais são as células pancreáticas (**Figura 5.8**). Essas células sintetizam e estocam em vesículas secretórias enzimas digestivas (relembre a aula de retículo endoplasmático e complexo de Golgi, da Biologia Celular I), que serão posteriormente liberadas através da região apical da célula para dentro do lúmen pancreático (interior do pâncreas). Em contrapartida, a região basolateral é responsável pela captação de nutrientes dos vasos sanguíneos para o interior das células pancreáticas, bem como pela interação com os vários hormônios que vão estimular a secreção dessas glândulas.

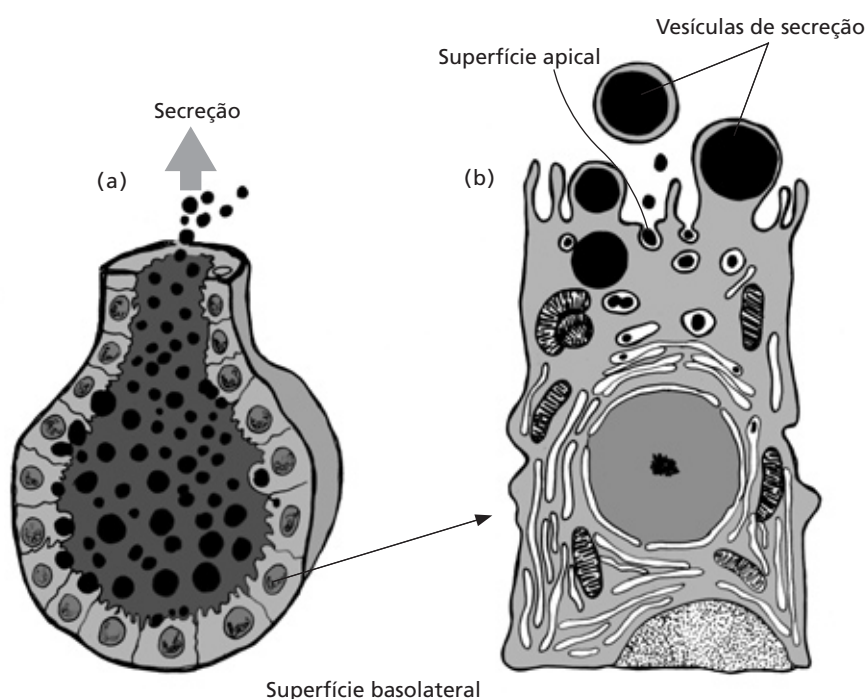


Figura 5.8: Células que formam o epitélio de glândulas secretoras como o pâncreas e as glândulas mamárias (a) também dependem da barreira formada pelas junções para garantir que a secreção se dê sempre na superfície apical. Na porção basolateral, são realizadas outras funções, como a absorção de nutrientes e moléculas necessárias à síntese. Em (b), vemos uma dessas células em destaque.

OCCLUSÃO SIM, FORÇA NÃO

Embora sejam muito eficientes no sentido de não permitir a passagem de moléculas por entre as células, o cinturão de oclusão não confere ao tecido resistência para suportar tensões. Assim, à medida que um órgão como a bexiga fosse acumulando um volume maior (no caso de urina) a tensão desse líquido sobre as paredes do epitélio poderia acabar causando o rompimento das junções oclusivas. Isso não acontece porque, entre outras razões, além das junções de oclusão, as células possuem junções de adesão ou ancoragem, que conferem grande resistência à tensão e deformação. Na próxima aula, elas e as junções comunicantes serão nosso assunto.

RESUMO

- Em tecidos organizados, as células são conectadas através de junções celulares, as quais são estruturas especializadas constituídas primariamente por proteínas.
- Junções oclusivas ou *tight* selam a passagem de fluidos entre os dois lados da camada celular e definem dois domínios na membrana plasmática: as regiões apical e basolateral.
- A composição das junções *tight* ainda não está totalmente esclarecida. Entretanto, duas proteínas descritas (claudinas e ocludinas) têm sido bastante estudadas. Existem diferentes tipos de claudinas e ocludinas. Cada epitélio apresenta um conjunto próprio dessas proteínas.
- As claudinas parecem ter papel fundamental para formação das junções oclusivas, podem realizar ligações heterofílicas ou homofílicas, enquanto as ocludinas só podem ligar-se com ocludinas do mesmo tipo (ligação homofílica) entre células vizinhas.
- Cada domínio contém lipídios e proteínas únicas que são responsáveis pelas funções especializadas de cada superfície celular, como as interações com hormônios ou fusão com vesículas intracelulares que contêm proteínas secretórias.

EXERCÍCIOS

1. Quais são as duas formas básicas de associação entre células?
2. Quais os três tipos de junções celulares e qual a função básica de cada um?
3. Por que as junções de oclusão receberam os seguintes nomes:

Junção tight -

Cinturão de oclusão -

4. Por que o cinturão de adesão forma uma barreira?
5. O que é um domínio de membrana?
6. Quais são as proteínas que formam a junção de oclusão?
7. O que é transporte transcelular? Exemplifique.
8. O que é transporte paracelular? Exemplifique uma situação em que ele ocorra.

Junções celulares 2: Junções ancoradoras e junções comunicantes

AULA 6

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Relacionar estrutura e função das junções ancoradoras.
- Relacionar estrutura e funções das junções comunicantes.
- Citar as principais doenças relacionadas a essas junções.

Pré-requisitos

Aulas 7 e 8 de Biologia Celular I (Estrutura da Membrana).
Aulas 9 a 12 de Biologia Celular I (Permeabilidade e Transporte).
Aulas 21 a 24 de Biologia Celular I (Citoesqueleto).

INTRODUÇÃO

Na aula anterior, procuramos deixar claro que à medida que constituem tecidos, as células passam a fazer parte de um *contexto social* em que é necessário que haja união e cooperação entre elas. Também vimos que os epitélios formam folhetos que separam dois ambientes, por exemplo, o interior e o exterior dos vasos sanguíneos ou do tubo digestivo (**Figura 6.1**).

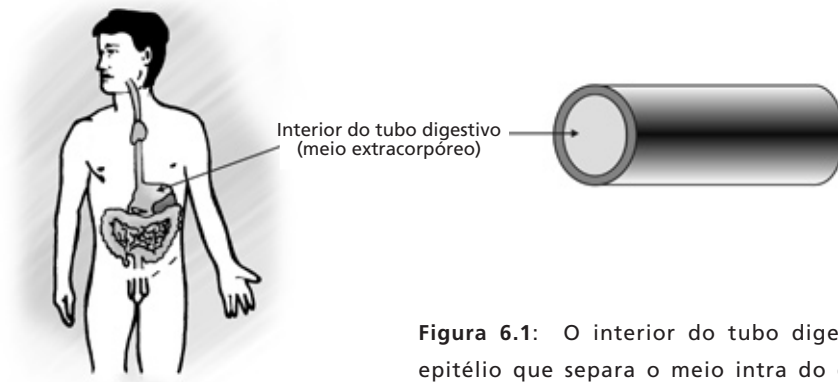


Figura 6.1: O interior do tubo digestivo é revestido por epitélio que separa o meio intra do extracorpóreo. Assim, apenas os alimentos digeridos e selecionados serão absorvidos.

Essa função de *isolamento* entre dois compartimentos é desempenhada pelas junções de oclusão. Entretanto, essas junções não são eficientes em conferir adesão e resistência entre as células, mantendo-as aderidas entre si e à lâmina basal, camada de tecido conjuntivo sempre presente abaixo de um epitélio. Nesta aula vamos abordar tanto as junções de **adesão**, ou **ancoradoras**, quanto as junções **comunicantes**.

JUNÇÕES ANCORADORAS

As junções ancoradoras são abundantes em tecidos submetidos a grande estresse mecânico, como o músculo cardíaco e o epitélio da pele, ocorrendo sob três formas funcional e estruturalmente diferentes: (1) **cinturão de adesão**, (2) **desmossomas** e (3) **hemidesmossomas**. Células que se aderem à matriz extracelular também formam com ela um tipo de junção de adesão: são os **contatos focais**. Em invertebrados, existe ainda um tipo especial de junção ancoradora: a **junção septante**. Todas as funções ancoradoras possuem em sua organização básica três tipos de proteína: uma proteína transmembrana, um tipo de filamento do citoesqueleto e proteínas adaptadoras que ligam a proteína transmembrana ao citoesqueleto (**Figura 6.2**).

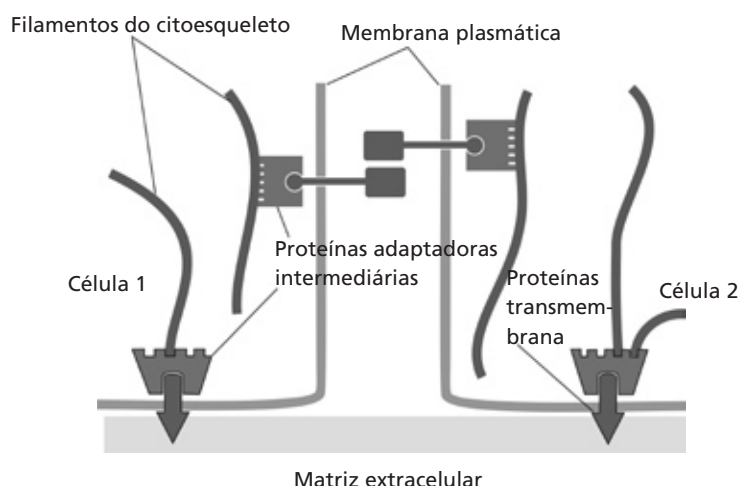


Figura 6.2: Algumas junções de adesão ancoram as células entre si, enquanto outras ancoram a célula à matriz extracelular. Todas são formadas por uma proteína transmembrana que, através de proteínas adaptadoras, se liga a filamentos do citoesqueleto.

Observando a **Figura 6.2**, você pode notar que as junções de adesão podem ser do tipo célula-célula ou do tipo célula-matriz extracelular. Vamos começar estudando as primeiras.

Matriz extracelular

A matriz extracelular (MEC) será estudada de forma mais detalhada na Aula 7. Basicamente, a MEC é composta por um conjunto de proteínas e glicoproteínas que são produzidas e lançadas para o meio extracelular onde exercem várias funções importantes.

CINTURÃO DE ADESÃO

Conforme já comentamos, as junções de oclusão formam um cinturão na porção lateral superior das células epiteliais, muito eficiente na impermeabilização do espaço intercelular. Logo abaixo desse cinturão de oclusão, posiciona-se um **cinturão de adesão** (Figura 6.3), formado por proteínas transmembrana da família das **caderinas**. As caderinas pertencem a uma grande família de moléculas de adesão célula-célula que são dependentes de Ca^{+2} para manter sua estrutura e funcionalidade (Figura 6.5).

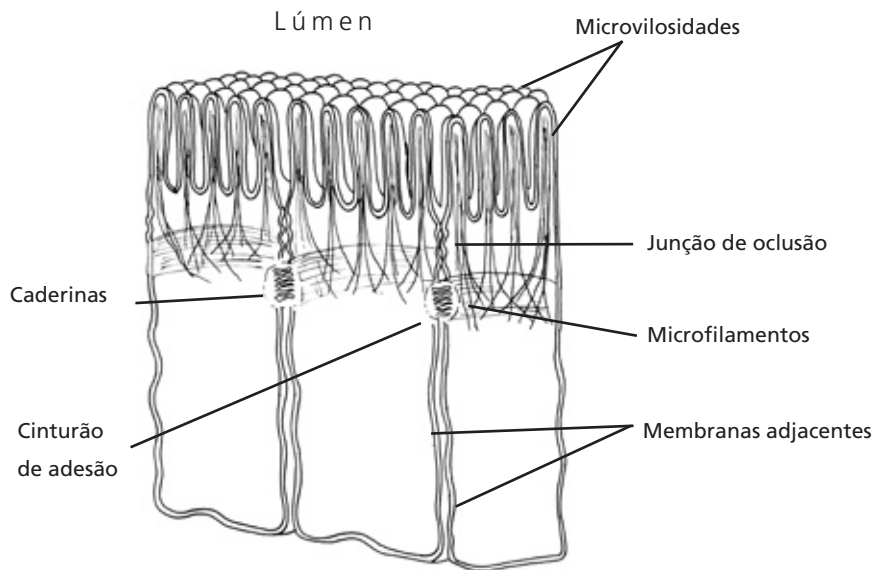
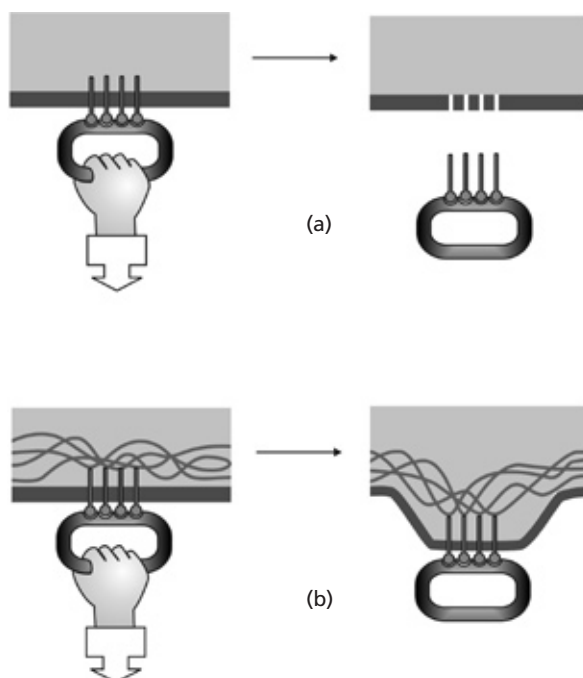


Figura 6.3: O cinturão de adesão se posiciona logo abaixo do cinturão de oclusão. Enquanto o primeiro não permite a passagem de substâncias por entre as células, o segundo assegura que o epitélio resista a tensões.

Por que dois cinturões?

Será que o cinturão de oclusão não daria conta, por si só, de manter a união entre as células? Acompanhe a **Figura 6.4** e você já vai ver que sem as junções de adesão nossos epitélios estariam irremediavelmente comprometidos em sua integridade.

Figura 6.4 : Em (a), vemos o que aconteceria se fosse exercida uma tensão (puxão) sobre proteínas inseridas numa bicamada lipídica fluida como é a membrana plasmática: as proteínas seriam “arrancadas”, como se estivéssemos tirando uma faca espetada em manteiga. Já quando as proteínas se prendem a filamentos do citoesqueleto, a tensão aplicada a essas proteínas é transmitida a esses “cabos de força”, que respondem deformando aquela região, incluindo a membrana, como mostra o esquema em (b).



AS CADERINAS FORMAM PONTES UNINDO O CITOESQUELETO DE DUAS CÉLULAS VIZINHAS

Pelo lado extracelular, as caderinas fazem um reconhecimento *homotípico*, isto é, uma caderina se liga a outra semelhante da membrana da célula vizinha. Pelo lado intracelular, as caderinas se ligam a proteínas adaptadoras que, por sua vez, se ligarão a filamentos de actina (**Figura 6.5**). Várias proteínas adaptadoras dessas e de outras junções já foram identificadas e batizadas com nomes como vinculina, catenina, α -actinina e placoglobina, bem sugestivos da sua função, não acha?

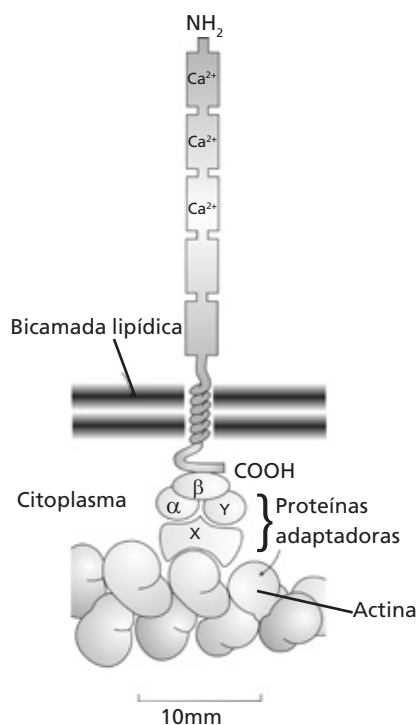


Figura 6.5: As caderinas dependem de Ca^{++} para manterem sua conformação. Pelo lado extracelular se ligarão a outra caderina e pelo lado citoplasmático a proteínas adaptadoras que, por sua vez, se ligarão a microfilamentos de actina.

Os microfilamentos associados ao cinturão de adesão formam feixes contráteis de actina-miosina (proteína motora, lembra?) no interior de cada célula epitelial. Isso é especialmente importante e interessante durante a embriogênese, quando os folhetos embrionários estão se curvando para formar estruturas tubulares como o intestino primitivo e o tubo neural (Figura 6.6).

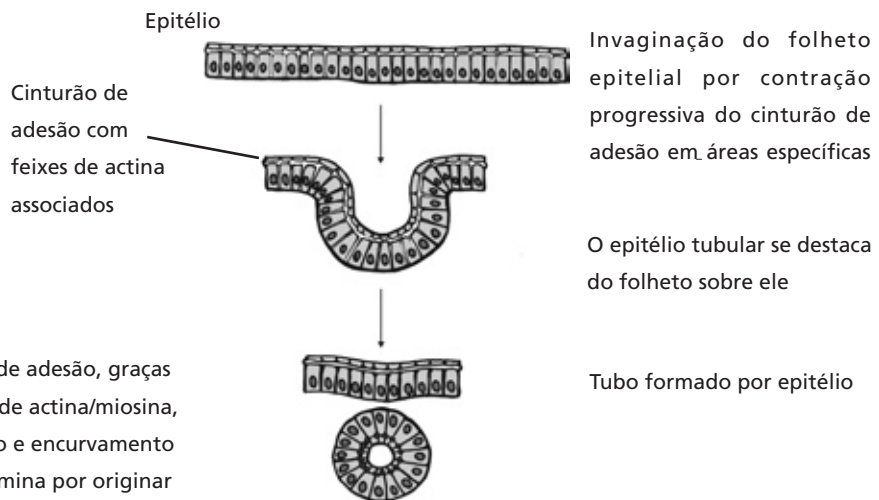


Figura 6.6: O cinturão de adesão, graças à contração dos feixes de actina/miosina, provoca uma contração e encurvamento de um epitélio que termina por originar uma estrutura tubular.

Diferentes tipos de caderinas estão envolvidos nesse processo. Assim, as células que vão originar o tubo neural estão ligadas pela N-caderina, as epiteliais pela E-caderina, e assim por diante.

DESMOSSOMAS, VERDADEIROS CABOS DE GUERRA

Não resta dúvida de que o cinturão de adesão desempenha papel fundamental na manutenção da integridade dos epitélios. Entretanto, só ele não é capaz de suportar as tensões exercidas sobre o epitélio. Afinal, ele se localiza apenas numa faixa abaixo do cinturão de oclusão. As células epiteliais contam ainda com numerosos **desmossomas**, junções pontuais que se distribuem pela porção lateral entre as células epiteliais (Figura 6.7). Os desmossomas também são formados por caderinas – as caderinas desmossomais: **desmogleína** e **desmocolina** – mas ligam-se a filamentos intermediários, como a queratina (no caso dos epitélios) e a desmina (no caso do músculo cardíaco), através de proteínas intermediárias adaptadoras.

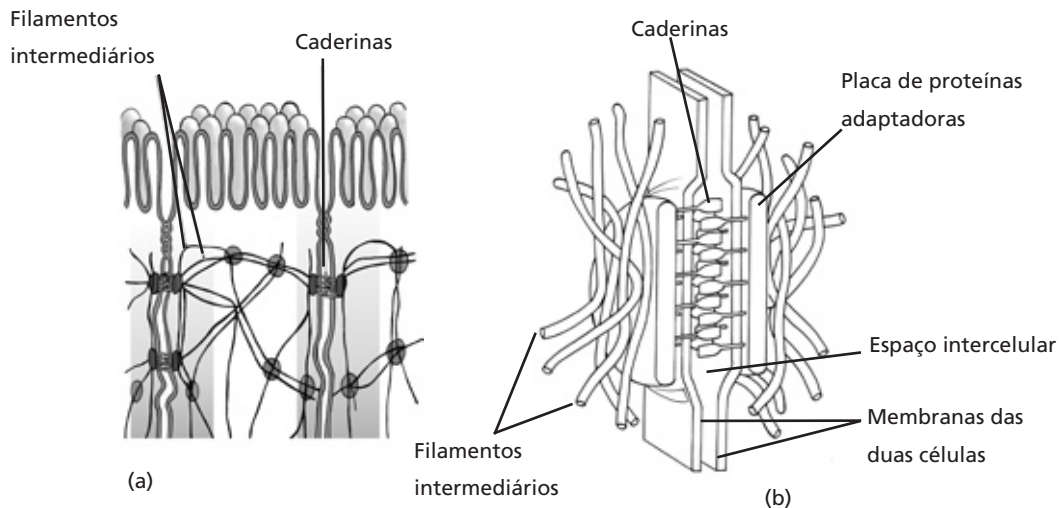


Figura 6.7: (a) Os desmossomas se distribuem como botões pelas laterais das células epiteliais, ligando-se a uma rede de filamentos intermediários. Em (b), vemos em detalhe a organização de um desmossoma. As caderinas se ligam umas às outras pelo lado extracelular. Pelo lado citoplasmático se ligam a uma placa formada por diversas proteínas que, por sua vez, se ligam a filamentos intermediários.

Embora sejam bem pequenos, os desmossomas são facilmente reconhecidos ao microscópio eletrônico de transmissão, pois a placa citoplasmática de proteínas intermediárias e os filamentos intermediários que dali partem lhes dão um aspecto único (Figura 6.8).

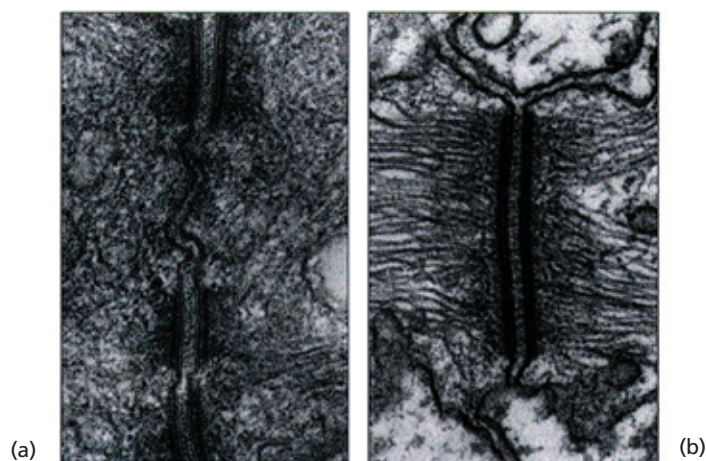


Figura 6.8: (a) Uma seqüência de três desmossomas une duas células adjacentes. (b) Maior aumento de um desmossoma, onde se pode observar claramente a placa citoplasmática de onde partem os filamentos intermediários e a densidade intercelular que corresponde às caderinas. Fotos: (a) N.B. Gilula, (b) D. E. Kelly.

Fogo selvagem, mas que diabo é isso?

Algumas pessoas desenvolvem uma doença auto-imune chamada pênfigo ou fogo-selvagem, em que a pele se abre em bolhas, exatamente como numa queimadura. Por razões ainda pouco compreendidas, essas pessoas produzem anticorpos que destroem proteínas como a desmogleína e a desmocolina, rompendo, assim, a ligação entre as células, causando inchações e vazamento de fluidos corporais para o epitélio frouxo. Essa doença é tratada com corticóides, que inibem a resposta imune, e substâncias que aliviam os sintomas bastante dolorosos e incômodos da doença. Testes de laboratório mostraram que os anticorpos produzidos pelas pessoas afetadas reconhecem apenas os desmossomas da pele, sugerindo que os desmossomas são bioquimicamente diferentes daqueles presentes em outros tecidos.

AS JUNÇÕES SEPTANTES

Em invertebrados, o papel do cinturão de adesão é desempenhado pelas **junções septantes**, amplamente distribuídas nos seus tecidos. Estas possuem várias características em comum com os cinturões de adesão. As junções septantes também formam uma banda contínua ao redor da borda apical das células epiteliais e parecem ajudar a manter as células unidas, bem como servem como sítios de ligação para os filamentos de actina. Elas possuem morfologia bastante distinta, sendo formadas por proteínas pouco caracterizadas que estão dispostas em fileiras paralelas com periodicidade regular unindo as membranas citoplasmáticas das células vizinhas (**Figura 6.9**).

Figura 6.9: Junção septante entre duas células de molusco. (Foto: N. B.Gilula).



JUNÇÕES CÉLULA-MATRIZ EXTRACELULAR

Além das ligações aderentes célula-célula, também é fundamental que as células epiteliais permaneçam aderidas à lâmina basal. No tecido conjuntivo, as células também estabelecem contatos com as proteínas da matriz extracelular que as envolve. Essas junções célula-matriz também estão esquematizadas na **Figura 6.2**, e sua principal diferença com relação às junções célula-célula é que as proteínas transmembrana que fazem o reconhecimento e a conexão entre o meio extracelular e o citoesqueleto são da família das **integrinas**. As junções entre a porção basal dos epitélios e a lâmina basal são os **hemidesmosomas**. Já as células do tecido conjuntivo estabelecem com a matriz extracelular os **contatos focais**.

HEMIDESSOMAS NÃO SÃO DESSOMAS PELA METADE

Embora o nome e o aspecto ultra-estrutural sugiram que os hemidesmosomas são exatamente a metade de um desmosoma (daí seu nome), não podemos esquecer que nos desmosomas a proteína transmembrana é sempre uma caderina e esta só se liga a outra caderina. Como a lâmina basal não é uma membrana e, muito menos, possui caderinas, no hemidesmosoma, a proteína transmembrana é sempre uma integrina, que reconhece uma proteína da lâmina basal, como a laminina. Além disso, a placoglobina, uma das proteínas que formam a placa citoplasmática dos desmosomas, não é encontrada nos hemidesmosomas. No mais, os hemidesmosomas são bem semelhantes aos desmosomas, com proteínas intermediárias formando uma placa que as liga a filamentos intermediários. Na prática, desmosomas e hemidesmosomas se interligam através da rede de filamentos intermediários (**Figura 6.10**) e, assim como o pênfigo é uma doença que destrói os desmosomas, a *epidermólise bullosa* é uma doença geneticamente determinada em que os hemidesmosomas são frágeis e o rompimento entre estes e a lâmina basal propicia a formação de bolhas que também se assemelham a queimaduras.

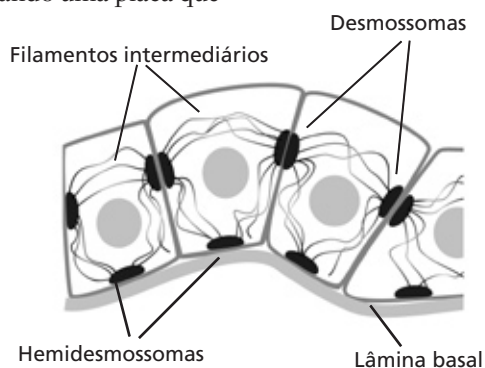


Figura 6.10: Os filamentos intermediários interligam os desmosomas e os hemidesmosomas.

A BOLHA

Uma experiência que quase todo mundo já deve ter tido é a de usar um sapato novo que, por roçar ou apertar continuamente o pé, acaba causando uma bolha d'água. Isso mostra bem a importância das junções de adesão: nossa pele é formada por diversas camadas de células epiteliais unidas por muitos desmossomas. As camadas superiores são formadas por células mortas, das quais resta principalmente a rede de filamentos de queratina. Essa cobertura impermeável nos protege tanto dos agentes ambientais (chuva, sol) quanto suporta a tensão exercida pelos fluidos extracelulares. O atrito contínuo do calçado sobre essas camadas protetoras acaba provocando seu desgaste; assim, o fluido extracelular acaba preenchendo a epiderme afinada, resultando na incômoda bolha. Para nossa felicidade, as células da pele estão em constante renovação (como vimos na Aula 2) e em poucos dias a camada protetora de células mortas se recompõe (Figura 6.11).

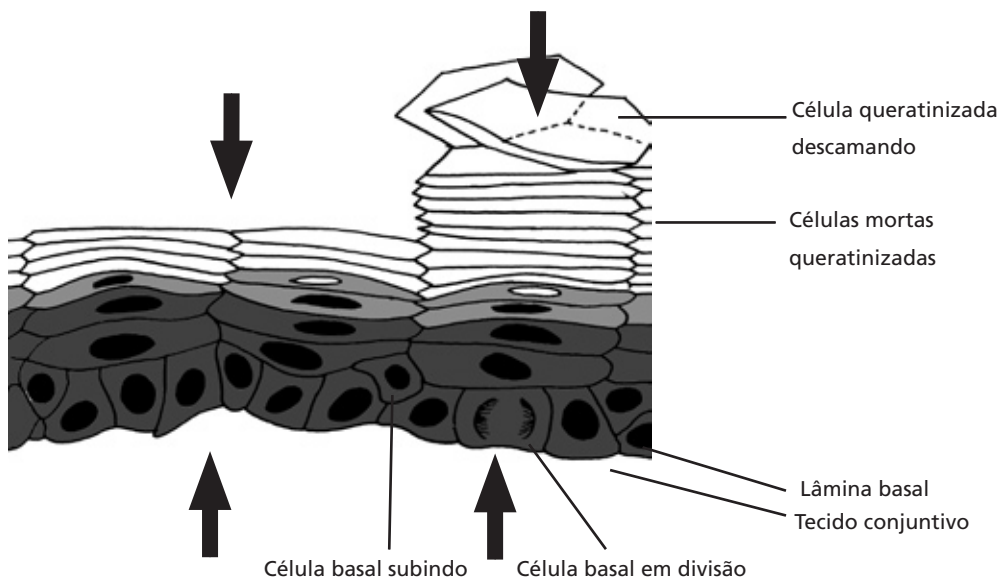


Figura 6.11: O desgaste das camadas queratinizadas da epiderme destrói o equilíbrio capaz de suportar a tensão do fluido extracelular, provocando as bolhas.

CONTATOS FOCAIS

Células capazes de migrar, como os fibroblastos, estabelecem com o substrato (o equivalente ao chão celular) pontos de adesão, chamados **contatos focais**, onde proteínas transmembrana da família das integrinas se ligam a moléculas da matriz extracelular. Pelo lado citoplasmático, as integrinas se ligam a proteínas como alfa-actinina, talina e vinculina e, finalmente, a filamentos de actina (**Figura 6.12**). A actina se organiza em feixes paralelos, constituindo as **fibras de tensão**, estudadas na aula de microfilamentos, de Biologia Celular I.

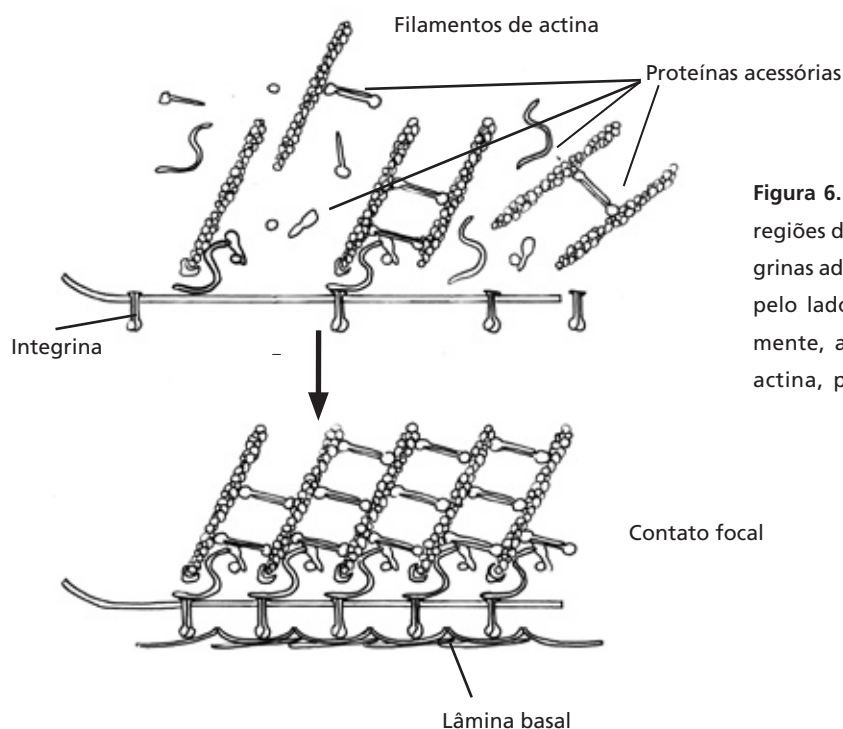


Figura 6.12: Os contatos focais são regiões da membrana onde as integrinas aderem à matriz extracelular pelo lado extracelular e, indiretamente, a feixes de filamentos de actina, pelo lado citoplasmático.

A grande diferença entre os contatos focais e as demais junções de adesão é que, como essas células se movem, esse tipo de junção se desfaz em um ponto da célula e se reorganiza mais adiante, permitindo a mudança de forma e de posição da célula (**Figura 6.13**).

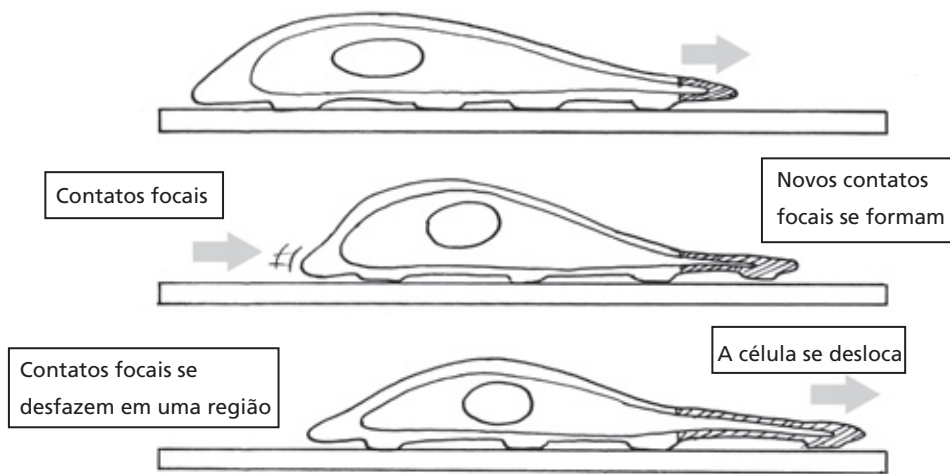


Figura 6.13: A dinâmica de formação de contatos focais em um ponto da célula e seu desaparecimento em outros levam à mudança de forma e deslocamento desta.

AS JUNÇÕES COMUNICANTES

A necessidade de comunicação e de cooperação metabólica entre as células de um organismo pluricelular faz com que as primeiras junções comunicantes se formem quando o embrião animal atinge o estágio de apenas oito células! Essas junções são denominadas **junções em fenda** ou **Gap** (espaço em inglês). A existência das junções Gap foi intuída muito antes de elas haverem sido visualizadas.

Experimentos de Eletrofisiologia mostravam que a estimulação elétrica de uma célula causava a despolarização não apenas desta, mas também das células vizinhas, evidenciando algum tipo de comunicação entre elas (**Figura 6.14**). Já células isoladas umas das outras não apresentavam essa resposta, indicando que a passagem do estímulo ocorria através do citoplasma.

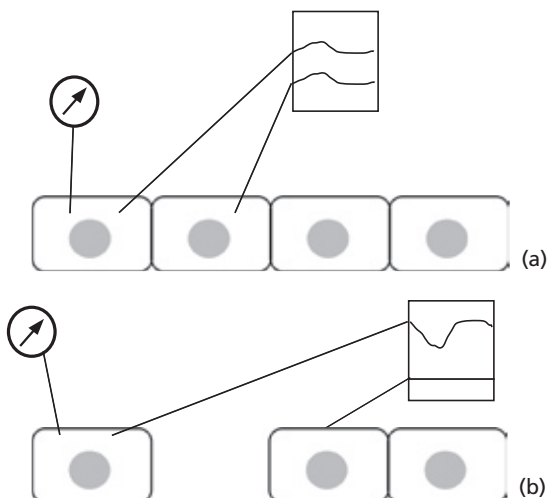
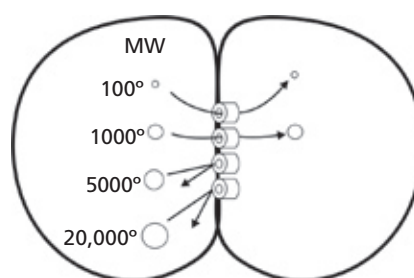


Figura 6.14: A estimulação elétrica de uma célula é transmitida às células vizinhas se elas estiverem conectadas.

Que moléculas são capazes de passar pelas junções comunicantes?

Os experimentos de medidas eletrofisiológicas indicavam que os íons podiam passar do citoplasma de uma célula para a célula vizinha. Experimentos realizados com pequenas moléculas fluorescentes injetadas em uma célula demonstraram que moléculas de até 1.000 daltons conseguiram atravessar prontamente as células adjacentes sem vazamento para o espaço extracelular. Dessa forma, células acopladas pelas junções tipo Gap são capazes de compartilhar pequenas moléculas (íons inorgânicos, aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas), mas não as suas macromoléculas (proteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos) (Figura 6.15).

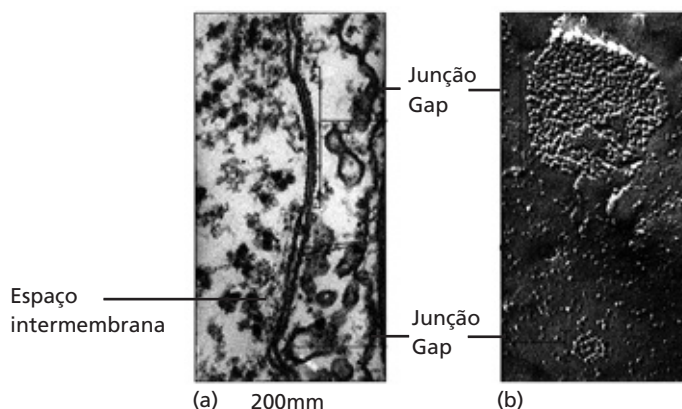
Figura 6.15: O peso molecular é o fator limitante para que moléculas passem através das junções Gap.



A ESTRUTURA DAS JUNÇÕES COMUNICANTES

As junções Gap são distribuídas ao longo das superfícies laterais das células adjacentes e permitem a troca de pequenas moléculas. Ao microscópio eletrônico de transmissão, observou-se que nas regiões onde havia junções comunicantes o espaço entre as membranas das células vizinhas era diferente (Figura 6.16.a), daí seu nome de batismo: Gap (= espaço). Entretanto, apenas com o advento da técnica de criofratura (Aula 3 de Biologia Celular I) e com a observação de frações de membrana enriquecidas em junções Gap, foi possível esclarecer sua estrutura (Figura 6.16.b).

Figura 6.16: Em (a) vemos a região de duas junções Gap em corte. Em (b) uma réplica de criofratura onde uma Gap grande e uma pequena aparecem como aglomerados de partículas intramembranasas. (Fotos: N.B. Gilula, pedir autorização)



JUNÇÕES COMUNICANTES

Junções comunicantes medeiam a passagem de sinais elétricos ou químicos de uma célula para outra. Elas podem ser visualizadas através da microscopia eletrônica como um aglomerado de partículas homogêneas intramembrana associadas exclusivamente à face citoplasmática (Figura 2.6).

Existem dois tipos de junções comunicantes: (1) junções tipo fenda ou Gap e (2) plasmodesmata – apenas em plantas.

As partículas observadas nas réplicas de criofratura correspondem aos **conexons**, verdadeiros poros moleculares formados por seis **conexinas**, proteínas específicas das junções comunicantes (Figura 6.17). Os conexons projetam-se de cada superfície celular, segurando a membrana plasmática a uma distância fixa entre elas – daí o termo tipo fenda. As seis conexinas de uma membrana se ligam a outras seis na membrana adjacente e estabelecem assim o canal de comunicação. Em contraste com as junções oclusivas, nas quais as membranas plasmáticas parecem estar em contato direto, as junções comunicantes tipo fenda mantêm a membrana plasmática a uma distância fixa entre elas.

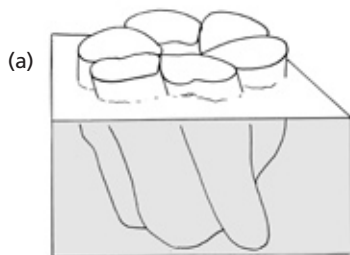
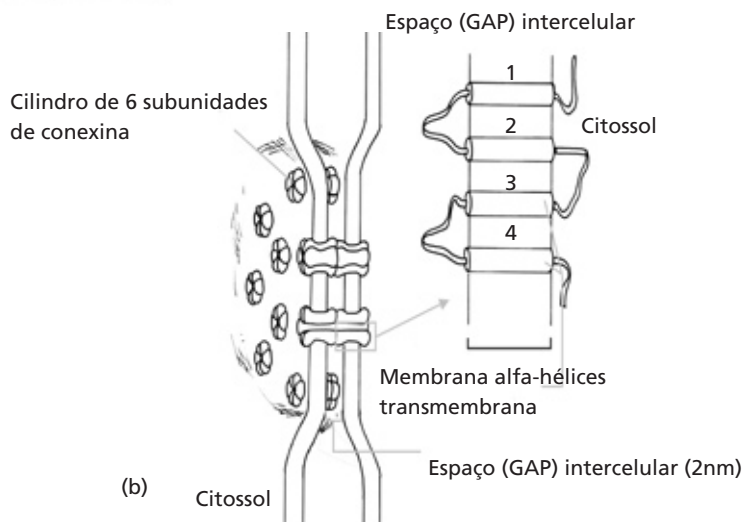


Figura 6.17: (a) Estrutura de um conexon. (b) As seis conexinas limitam um poro por onde passam as moléculas de uma célula para a vizinha. A mudança de posição das conexinas também pode levar o canal a se fechar. Cada conexina é uma proteína com quatro domínios transmembrana.



CONEXONS EM AÇÃO

As junções tipo fenda podem ter propriedades distintas nos diferentes tecidos. A permeabilidade dos canais pode variar devido a diferenças nas conexinas que formam as junções. Existem pelo menos 11 conexinas diferentes, cada uma codificada por um gene em separado e tendo uma distribuição tecidual distinta. Alguns tecidos possuem mais de um tipo de conexina, mas, apesar das diferenças entre as várias conexinas, suas funções e sua estrutura básica foram altamente conservadas durante a evolução.

Como os canais iônicos convencionais, os canais tipo fenda não estão constantemente abertos. A permeabilidade das junções tipo fenda é rápida e pode ser aberta ou fechada através da alteração de pH do citossol ou concentração citossólica de Ca^{+2} livre. O papel fisiológico do pH na permeabilidade dessas junções ainda não está esclarecido, mas acredita-se que possa ser uma defesa das células vizinhas para o caso de uma célula romper-se ou sofrer autólise.

PARADINHA PARA UM PAPO

Existem muitas semelhanças entre os canais iônicos que estudamos na Aula 8 de Biologia Celular I e os conexons. Tantas que, para alguns autores, eles são um tipo de canal iônico. Entretanto, devemos estar atentos para duas diferenças fundamentais: 1– os canais iônicos costumam ser específicos para um determinado íon, enquanto as junções tipo fenda deixam passar todos os íons citoplasmáticos a favor do gradiente de concentração; 2– os canais iônicos se abrem e se fecham rapidamente, enquanto os conexons permanecem abertos a menos que ocorra um sinal de alerta (como o Ca^{+2}) que induza seu rápido fechamento.

Com relação ao Ca^{+2} as junções tipo fenda possuem um importante papel: a presença de cálcio no citossol dispara diversos eventos, e serve para propagar um sinal elétrico entre células musculares ou nervosas. O aumento do nível de Ca^{+2} e Na^{+} , relacionado à abertura de canais iônicos da membrana, também provoca o fechamento das junções Gap. Esse mecanismo evita tanto que a propagação de um sinal elétrico (como a contração das câmaras cardíacas) **volte no sentido errado** quanto protege as células vizinhas caso uma célula danificada seja invadida por íons extracelulares. Dessa forma, as junções tipo fenda causam um efetivo isolamento da célula danificada, fechando os conexons e impedindo a entrada de Ca^{+2} e outros íons indesejáveis.

Nas sinapses elétricas, existentes apenas no sistema nervoso central, os neurônios se comunicam de forma muito rápida através de junções Gap. Assim, impulsos elétricos podem passar diretamente de um neurônio para outro. Esse tipo de transmissão nervosa é bem mais rápido do que aquele em que há necessidade de um neurotransmissor.

Plasmodesmatas

A organização dos tecidos de plantas é diferente dos existentes em animais porque as células vegetais possuem parede celular rígida, rica em celulose. As paredes celulares eliminam a necessidade de junções oclusivas para manter as células unidas, mas a necessidade de comunicação direta entre as células permanece. Assim, em contraste com as células animais, as células vegetais possuem apenas uma classe de junções celulares, que são os **plasmodesmatas**.

Os plasmodesmatas, assim como as junções tipo fenda, ligam diretamente os citoplasmas de células vizinhas. Cada célula viva de um vegetal (com raras exceções) está ligada às células vizinhas pelos plasmodesmatas, que formam finos canais citoplasmáticos ($0,1\mu\text{m}$) capazes de atravessar a parede celular entre duas células adjacentes (**Figura 6.18**).

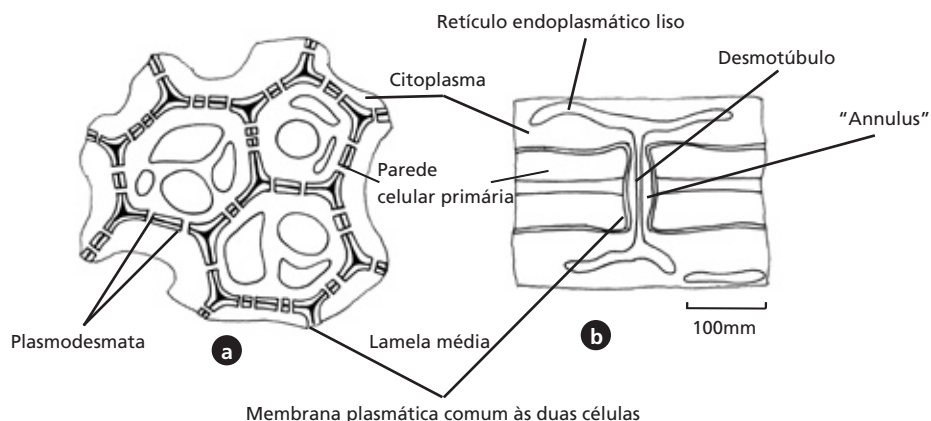


Figura 6.18: Estrutura do plasmodesmata.

Cada plasmodesmata é revestido com uma membrana plasmática comum às duas células ligadas. Normalmente, o plasmodesmata também contém uma estrutura tubular e fina denominada desmotúbulo, derivada do retículo endoplasmático liso.

Assim como nas junções tipo fenda, o transporte através dos plasmodesmats é inibido de forma reversível pela elevação de Ca^{+2} citossólico e permite o transporte de moléculas de tamanho inferior a 1.000 daltons.

CONCLUSÃO

No início da Aula 5, comentamos que algumas células se associam através de junções enquanto outras se mantinham distantes, porém coladas, por meio da matriz extracelular, assunto das próximas aulas de nossa disciplina.

RESUMO

- Os principais tipos de junções ancoradoras presentes nos tecidos de vertebrados são junções aderentes, desmossomas e hemidesmossomas.
- Junções aderentes são sítios de ligação para filamentos de actina, enquanto os desmossomas e hemidesmossomas são sítios de ligação para filamentos intermediários.
- Junções tipo fenda ou Gap são junções comunicantes formadas por conjuntos de proteínas que permitem a passagem direta de moléculas menores de 1.000 daltons de uma célula para o interior da célula adjacente.
- Junções Gap estão envolvidas no transporte de pequenas moléculas, bem como nas sinapses elétricas.
- Os plasmodesmatas são as únicas junções celulares em plantas e, apesar de possuírem estrutura completamente diferente, funcionam como as junções tipo fenda.

EXERCÍCIOS

1. Qual é a principal função dos desmossomas e quais são suas proteínas constituintes?
2. Como o cinturão de adesão contribui para a formação de estruturas tubulares?
3. Qual a principal diferença entre desmossomas e hemidesmossomas?
4. Junções Gap permitem a comunicação célula-célula.
 - a) Qual é a proteína estrutural encontrada nas junções Gap?
 - b) Qual o tamanho das moléculas que podem atravessar as junções Gap?
 - c) Qual o efeito do Ca^{+2} na abertura ou fechamento das junções Gap?
5. Por que as plasmodesmatas são as únicas junções encontradas em plantas?

Matriz extracelular

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Definir o que é a matriz extracelular.
- Enumerar os tecidos onde a matriz extracelular tem papel fundamental.
- Caracterizar as moléculas constituintes da matriz extracelular.

Pré-requisitos

Aulas 7, 8, 16 e 17 de Biologia Celular 1.

INTRODUÇÃO

No desenvolvimento dos organismos pluricelulares, as células vão progressivamente constituindo tecidos, conjuntos de células mais especializadas. Nos animais vertebrados existem quatro tipos essenciais de tecido: epitelial, nervoso, muscular e conjuntivo. Já as plantas não possuem sistema nervoso ou músculos, e os tecidos vegetais, embora análogos aos dos animais em alguns aspectos (por exemplo, as folhas também são revestidas por uma epiderme), muito pouco se parecem com os nossos. Nos epitélios, nos músculos e nos nervos, as células se apresentam bem próximas umas das outras, com pouca substância intercelular. Já nos tecidos conjuntivos – que incluem cartilagens, ossos e sangue – as células ficam bastante espaçadas entre si (**Figura 7.1**). O espaço entre as células é preenchido por substâncias secretadas por elas próprias: a **matriz extracelular (MEC)**, assunto desta aula. Até bem pouco tempo não se conheciam as principais funções da matriz extracelular. A MEC era tida como uma estrutura inerte constituída por várias proteínas e polissacarídeos que eram sintetizados e secretados pelas células para o preenchimento do espaço extracelular. Atualmente, sabe-se que a MEC, além de auxiliar na ligação das células para formação dos tecidos, também serve como reservatório para muitos hormônios, controlando o crescimento e a diferenciação celular. Várias dessas moléculas são ligantes que podem, via receptores da superfície da célula, ativar vias de sinalização (Aula 13 de Biologia Celular I).

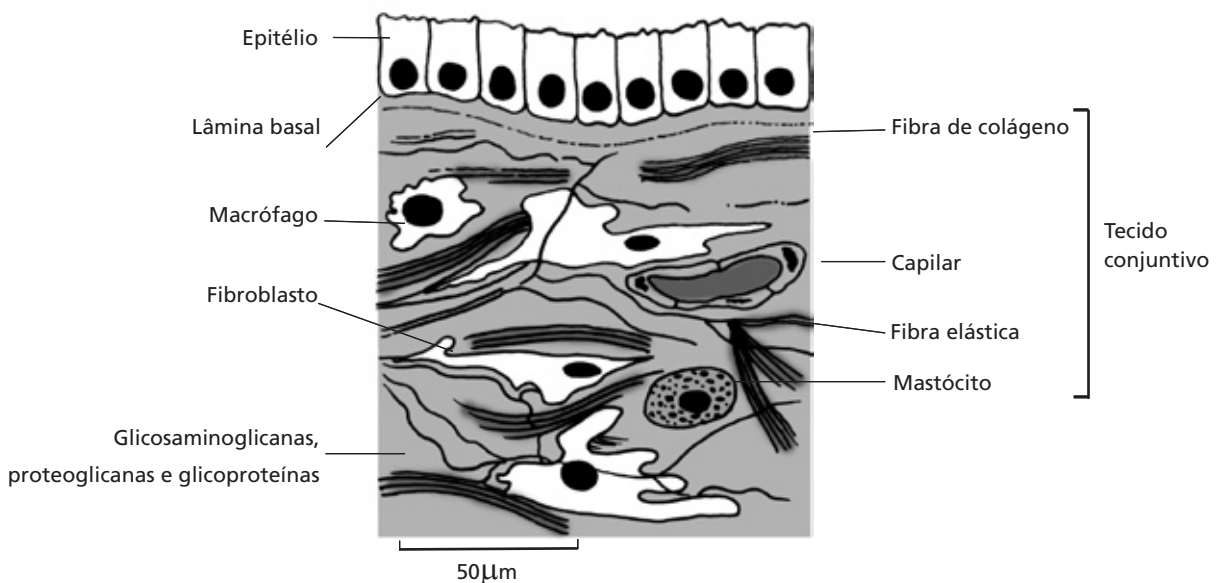
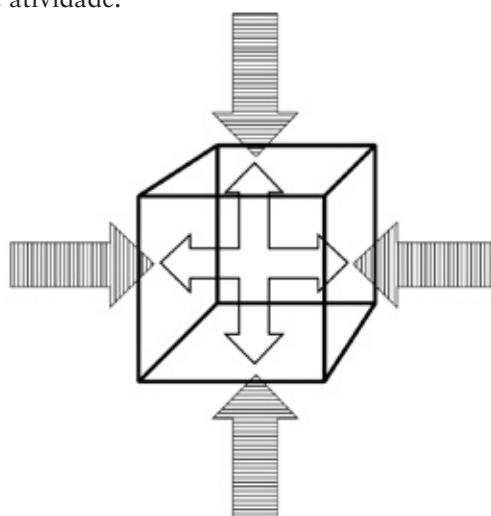


Figura 7.1: Nos epitélios, as células ficam bem próximas umas das outras e aderem à lâmina basal. Já no tecido conjuntivo, diferentes tipos celulares se distribuem numa matriz composta por diversos tipos de fibras protéicas e outras moléculas secretadas pelos fibroblastos.

O QUE É A MATRIZ EXTRACELULAR?

A matriz extracelular, como o próprio nome sugere, representa o conteúdo extracelular dos tecidos; nela e sobre ela repousam as células dos vertebrados. Os tecidos ricos em matriz – conjuntivo, cartilagem – possuem um aspecto *gelatinoso*. Essa verdadeira *cola biológica* é constituída por fibras protéicas e polissacarídeos, numa combinação que confere a esses tecidos uma imensa resistência à compressão e à tensão (**Figura 7.2**). Entretanto, a função da matriz extracelular ultrapassa muito o aspecto meramente estrutural: a matriz dita às células que a secretam informações essenciais para sua diferenciação e atividade.

Figura 7.2: A matriz extracelular confere aos tecidos tanto resistência à compressão (setas riscadas) quanto à tensão (seta vazada).



De acordo com sua constituição química e ocorrência, a matriz abrange duas categorias de estruturas extracelulares: (1) membranas basais e (2) tecido conjuntivo (ou conectivo) intersticial (**Figura 7.1**). Ambas as estruturas, veremos, diferem não somente quanto à composição e à localização, mas também quanto à função.

As células responsáveis pela produção da matriz extracelular são os **fibroblastos**. Os *condroblastos* do tecido cartilaginoso e os *osteoblastos* do tecido ósseo são tipos celulares resultantes da diferenciação de fibroblastos que secretam a matriz extracelular desses tecidos (vide boxe).

Os principais componentes da matriz extracelular são macromoléculas pertencentes a três categorias: (a) cadeias de polissacarídeos denominadas **glicosaminoglicanas**, (b) **proteínas fibrosas** de função estrutural (colágeno e elastina) e (c) **proteínas de função adesiva** (fibronectina e laminina).

OSSOS E SANGUE TAMBÉM SECRETAM MATRIZ

Embora o termo matriz extracelular seja mais facilmente associado às cartilagens e a substâncias de *preenchimento*, o sangue também é um tipo de tecido conjuntivo, embora nesse caso a matriz extracelular não seja gelatinosa, isso porque essa matriz possui uma constituição diferente, em que não predominam as fibras protéicas nem as proteoglicanas. O sangue é, por assim dizer, um tecido líquido.

No outro extremo estão os ossos, um tipo de tecido construído para suportar grandes compressões. A matriz óssea é rica em fibras colágenas, que são secretadas pelos osteoblastos e formam camadas concêntricas em torno dessas células. A incorporação de fosfato de cálcio a essa matriz colágena termina por conferir a esse tecido uma resistência comparável à do concreto. Compare através dos esquemas da **Figura 7.3** como o sangue, os ossos e o tecido conjuntivo possuem em comum o fato de serem tecidos compostos por células de diferentes tipos dispersas numa matriz secretada por suas próprias células.

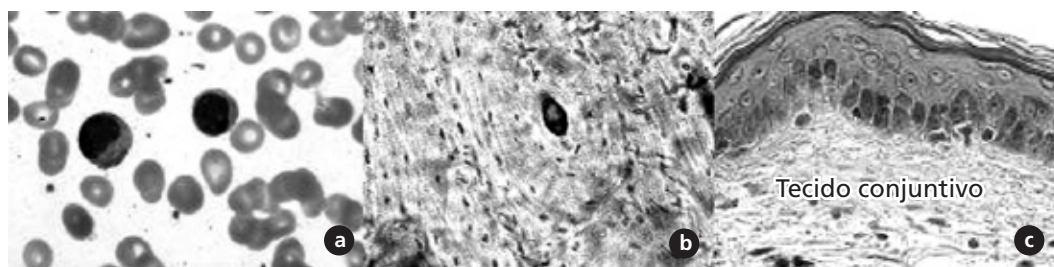
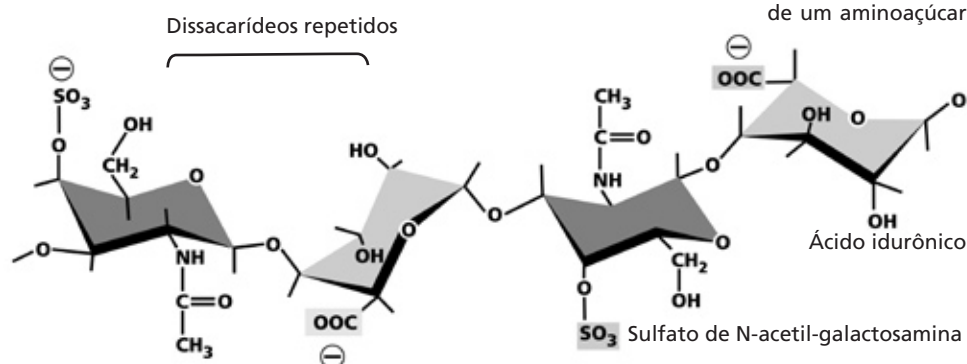


Figura 7.3: Tanto o sangue (a) quanto os ossos (b) e o tecido conjuntivo (c) são formados por células dispersas numa matriz acelular. Imagens cedidas pelo LABMEL da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

GLICOSAMINOGLICANAS, UM NOME COMPRIDO PARA MOLÉCULAS IDEM

As glicosaminoglicanas ou, abreviadamente, GAGs, são formadas por unidades repetidas de dissacarídeos, sendo que um dos açúcares sempre é um **açúcar aminado** (N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina) e sulfatado, e o segundo açúcar é normalmente um **ácido urônico** (glicurônico ou idurônico). Devido à presença do sulfato e das carboxilas dos ácidos urônicos, as GAGs são carregadas negativamente, formando uma longa molécula, contendo de 70 a 200 monossacarídeos (**Figura 7.4**). As GAGs são as moléculas mais negativas que uma célula sintetiza. Como as cadeias de açúcar são, além de longas, bastante rígidas, se comparadas aos polipeptídeos, por exemplo, e hidrofílicas (gostam da água; lembre-se: açúcares se dissolvem bem em água), as GAGs tendem a ocupar um enorme volume e, por conta da carga negativa, atraem muitos cátions, especialmente Na^+ e, conseqüentemente, mais água, funcionando como verdadeiras esponjas (vide boxe).

Figura 7.4: As glicosaminoglicanas são longas cadeias formadas pela alternância de um aminoaçúcar e outro monossacarídeo.



DÊ UMA PARADINHA...

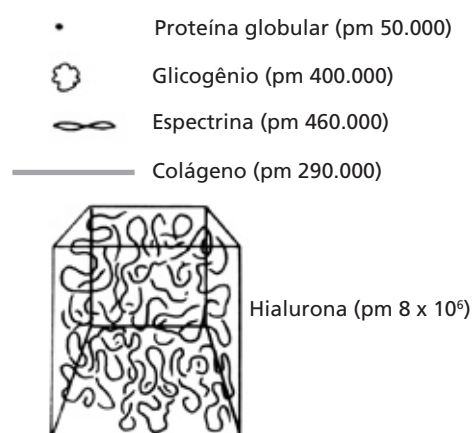
Uma das principais características das GAGs é a sua capacidade de reter uma grande quantidade de água, conferindo à região onde são liberadas resistência a forças de compressão. Um bom exemplo disso é a cartilagem que reveste a articulação do joelho, muito resistente a pressões, graças a esse mecanismo. Quando ocorre perda de GAGs (particularmente ácido hialurônico) nas articulações do joelho, elas perdem a sua lubrificação e ficam expostas ao atrito, o que acarreta dores intensas.

A capacidade de retenção de água pelas GAGs dá origem a um gel altamente hidratado (Figura 7.5), que preenche a maior parte do espaço extracelular, fornecendo suporte mecânico para os tecidos e permitindo a difusão rápida de moléculas hidrossolúveis, bem como a migração celular.

ÁGUA (E GAGs), O SEGREDO DA JUVENTUDE?

Comparadas a outras moléculas (Figura 7.5), as GAGs ocupam um volume muito maior. Nos indivíduos jovens, a quantidade de tecido conjuntivo intersticial é maior que nos idosos. Assim, por atraírem osmoticamente grandes quantidades de água, os tecidos dos indivíduos jovens se apresentam mais túrgidos, mantendo a pele esticadinha. Nos bebês, onde a musculatura é pouco desenvolvida, esse efeito resulta (junto com o acúmulo de gordura) no que chamamos de “bebê fofinho”.

Figura 7.5: GAGs no tecido subcutâneo ajudam a reter água, tornando o bebê fofinho.



AS GAGs NÃO SÃO TODAS IGUAIS

As GAGs foram subdivididas em quatro grupos, de acordo com o tipo de açúcar, tipo de ligação glicosídica (nome dado à ligação covalente que une um açúcar a outro), número e localização dos grupos sulfatos. São eles:

1. hialuronas, que não se ligam covalentemente a proteínas;
2. sulfato de condroitina e sulfato de dermatana;
3. sulfato de heparana;
4. sulfato de queratana.

Todas as GAGs, com exceção da hialurona, estão ligadas covalentemente a um núcleo protéico, formando uma estrutura denominada **proteoglicana** (Figura 7.6).

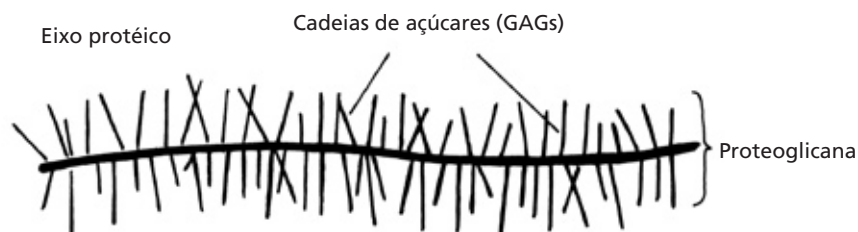


Figura 7.6: As proteoglicanas são moléculas formadas por cadeias de açúcares que se dispõem ao longo de um eixo formado por uma proteína.

AS HIALURONAS

As hialuronas, também chamadas ácido hialurônico ou hialuronato, não formam proteoglicanas porque possuem algumas diferenças em relação às demais GAGs (veja **Tabela 7.1**).

Tabela 7.1: Diferenças entre hialuronas e demais GAGs.

Hialurona	Demais GAGs
Não contém açúcar sulfatado	Contém açúcar sulfatado
Seqüências regulares de unidades de dissacarídeo formando estruturas simples	Número diferente de unidades de dissacarídeos formando estruturas complexas
Cadeias longas de até 25.000 moléculas de açúcar	Cadeias curtas de até 300 moléculas de açúcares
Não é ligada covalentemente a proteínas	São ligadas covalentemente a proteínas

A hialurona é especialmente importante durante o desenvolvimento embrionário, porque pode atuar como molde para uma outra estrutura. Logo após sua síntese, a hialurona expande-se (com água) e passa a ocupar um grande volume, que poderá ser mais tarde ocupado para formação de órgãos como coração, córnea etc. Além de atuar como um *enchimento*, ocupando espaços que serão futuramente preenchidos por células, a hialurona *induz* a migração celular – mecanismo conhecido como *quimiotaxia*. Posteriormente, a hialurona será degradada pela ação de uma enzima – a hialuronidase – secretada pelas próprias células atraídas por ela e as células se diferenciarão para formação de órgãos.

AS PROTEOGLICANAS

As proteoglicanas, assim como as glicoproteínas, são formadas por proteínas e açúcares. Contudo, elas se diferenciam pela quantidade e disposição das cadeias laterais de açúcares (**Figura 7.6**). As proteoglicanas podem possuir até 95% do seu peso em carboidratos, enquanto as glicoproteínas contêm de 1%-60% de seu peso em carboidratos (veja o box). Não é fácil classificar as proteoglicanas, pois são formadas por longas cadeias não ramificadas de açúcares bastante heterogêneas. Atualmente, elas são definidas como um grupo diverso de glicoproteínas altamente glicosiladas cujas funções são mediadas pelo núcleo protéico e pela cadeia de GAG.

Como já foi dito, todas as GAGs – com exceção da hialurona – fazem ligações covalentes com proteínas, formando as proteoglicanas (**Figura 7.6**). A cadeia de GAGs se liga a uma serina do núcleo protéico através de um tetrassacarídeo formado por uma molécula de xilose, seguida por duas de galactose e uma de ácido glucurônico (**Figura 7.7**).

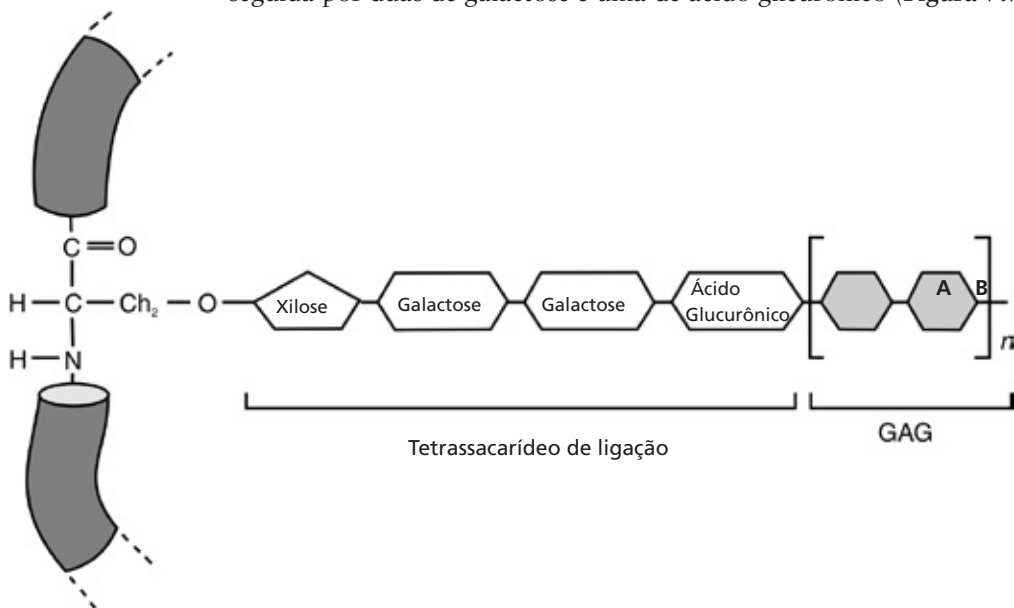


Figura 7.7: Uma GAG, formada por repetições dos sacarídeos A e B, se liga a uma serina do eixo protéico por um tetrassacarídeo formado por xilose, duas moléculas de galactose e uma de ácido glucurônico.

UMAS TÊM TANTO, OUTRAS TÃO POUCO...

Antes que você pense em outra coisa: estamos falando de açúcares associados a proteínas. Tipicamente, as proteoglicanas possuem inúmeras cadeias polissacarídicas associadas a uma cadeia protéica, o que dá à molécula uma aparência *cabeluda* (Figura 7.6). Entretanto, a **decorina** (uma proteoglicana secretada por fibroblastos) é uma exceção, pois apenas uma GAG se ancora à sua cadeia protéica (Figura 7.8). Mesmo assim a decorina possui uma cadeia de açúcares muito mais longa que a ribonuclease, esta sim uma glicoproteína típica (Figura 7.8). Voltando ao início do parágrafo: o que você pensou quando viu aquele título? Nós estávamos pensando em cabelos, viu?

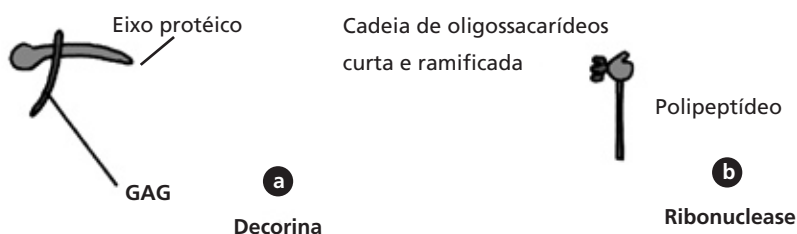


Figura 7.8: Esquema comparativo da molécula de decorina (A), com apenas uma GAG e a ribonuclease (B) com uma cadeia de açúcares curta e ramificada.

FUNÇÕES DAS PROTEOGLICANAS

A importância das proteoglicanas ultrapassa muito seu papel estrutural de *enchimento*. Se assim não fosse, por que haveria tão grande diversidade entre elas? Entre as diversas funções que as proteoglicanas podem desempenhar, podemos citar algumas.

1) **Regulação da atividade de moléculas sinalizadoras.** Proteoglicanas podem se ligar a várias moléculas e controlar a atividade de proteínas secretadas.

A atividade de **enzimas proteolíticas** (proteases) pode ser inibida se elas se ligarem ou forem barradas pelas proteoglicanas, tendo assim seu raio de ação limitado. O mesmo pode ocorrer com inibidores de protease e fatores de crescimento, como as proteínas da família do TGF- β (*transforming growth factor* β), que ao se ligar a proteoglicanas da matriz têm sua atividade inibida.

2) **Controle do tráfego de células e moléculas.** Os géis formados pelas proteoglicanas têm vários tamanhos de poros e cargas, atuando como peneiras moleculares capazes de filtrar moléculas e células de acordo com seu tamanho e carga. Na membrana basal das células do glomérulo renal, a proteoglicana sulfato de heparana, também chamada *perlecan*, filtra moléculas que passam da corrente sanguínea para a urina.

3) **Co-receptores.** Nem todas as proteoglicanas são sintetizadas e liberadas para o meio extracelular, algumas são componentes integrais da membrana plasmática. As *sindecanas* são proteoglicanas integrais encontradas em fibroblastos e células epiteliais. Nas superfícies celulares, as sindecanas podem servir como receptores propriamente ditos ou como co-receptores ligando-se a moléculas (concentrando-as) e depois apresentando-as para os seus respectivos receptores.

4) **Interação com proteínas fibrosas da matriz.** As GAGs e proteoglicanas podem interagir com proteínas da matriz, como o colágeno, formando estruturas altamente complexas, como a membrana basal.

A Tabela 7.2 resume algumas características importantes das proteoglicanas mais conhecidas.

Tabela 7.2: Algumas das proteoglicanas mais comuns.

Proteoglicana	GAGs componentes	Localização	Função
Agrecan	Sulfato de condroitina + sulfato de queratana	Cartilagem	Suporte mecânico. Forma grandes agregados com hialuronas
Betaglicana	Sulfato de condroitina + sulfato de dermatana	Superfície celular e matriz	Liga-se ao fator de crescimento TGF- β
Decorina	Sulfato de condroitina + sulfato de dermatana	Distribuída em tecidos conjuntivos	Liga-se a fibras de colágeno do tipo 1 e TGF- β
Perlecan	Sulfato de condroitina + sulfato de heparana	Lâmina basal	Função estrutural e de filtração na lâmina basal
Sindecana	Sulfato de heparana	Epitélios	Adesão celular. Liga-se a fatores de crescimento

AS GAGs PODEM FORMAR ESTRUTURAS COMPLEXAS

GAGs, como a hialurona, e proteoglicanas podem formar estruturas extremamente complexas, visíveis ao microscópio eletrônico (Figura 7.9). Além disso, as GAGs também podem se associar às proteínas fibrosas da matriz, como o colágeno. Podemos então concluir que a composição e a organização da matriz extracelular são bastante sofisticadas, bem diferentes de uma massa amorfa.

Esse conceito será ainda mais enfatizado depois que você conhecer as proteínas da matriz, assunto da próxima aula.

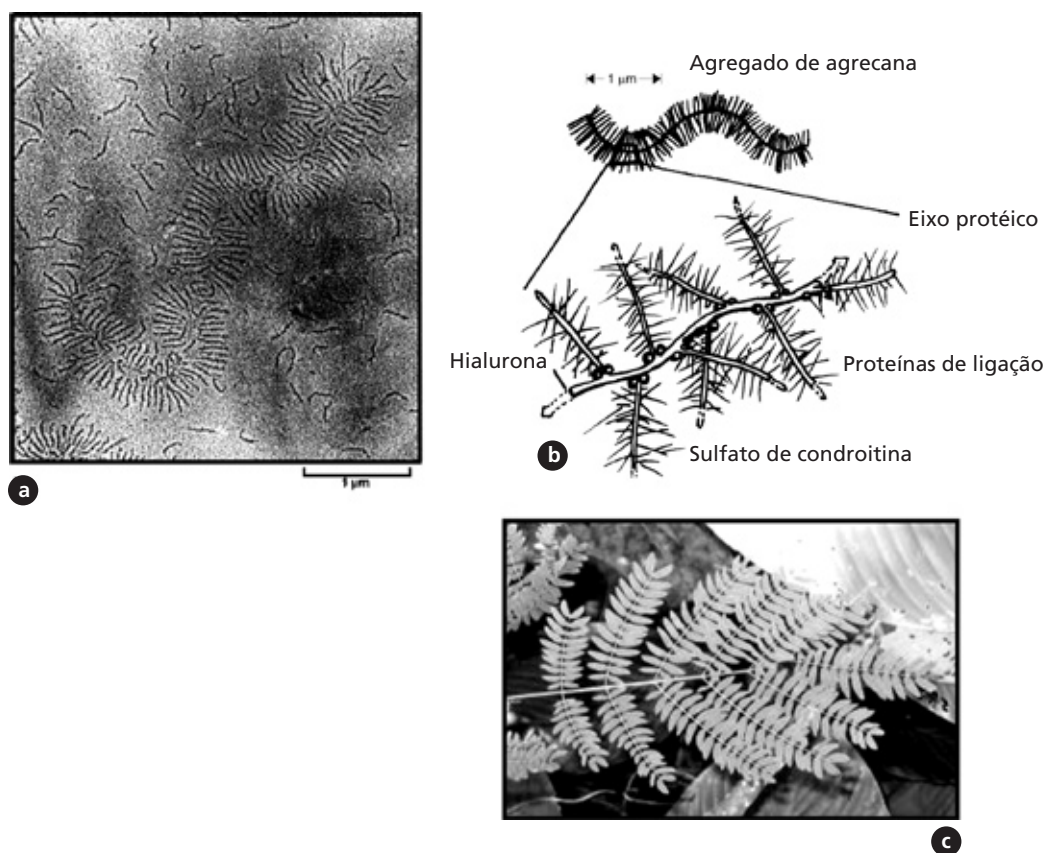


Figura 7.9: (a) Fotografado ao microscópio eletrônico, um agregado de aggrecana pode chegar a medir vários micrômetros; (b) cada uma dessas *centopéias* é, na verdade, formada por várias proteoglicanas ligadas a um eixo de hialurona. Podemos comparar essa organização à da folha composta que aparece em (c); (Foto: Cortesia de Lawrence Rosenberg para *Molecular Biology of the Cell* 3ª ed.)

RESUMO

- A matriz extracelular auxilia na ligação das células para formação dos tecidos e serve como reservatório para muitos hormônios, controlando o crescimento e a diferenciação celular.

- A lâmina basal é uma fina matriz extracelular que serve como suporte para células epiteliais, endoteliais e musculares.

Glicosaminoglicanas (GAGs) são componentes da matriz extracelular que conferem resistência à compressão pelo fato de serem carregadas negativamente e, conseqüentemente, seqüestram cátions que acabam atraindo grande quantidade de água.

- A maioria das GAGs, com exceção das hialuronas, encontra-se conjugada com proteínas, formando as proteoglicanas.

- As proteoglicanas possuem várias funções importantes para as células, como: regular a atividade de moléculas sinalizadoras; controlar o tráfego de células e moléculas; atuar como co-receptores e interagir com proteínas fibrosas da matriz.

EXERCÍCIOS

1. Que tipos de tecido se caracterizam por ter matriz extracelular?
2. Onde a matriz é produzida?
3. Quais são os principais componentes da matriz extracelular?
4. Diferencie glicosaminoglicanas de proteoglicanas.
5. Diferencie proteoglicanas de glicoproteínas.
6. Quais as principais propriedades das GAGs e das proteoglicanas que tornam a matriz resistente à compressão?
7. Além da função estrutural, que outros papéis desempenham as proteoglicanas e GAGs?

Matriz extracelular: as proteínas da matriz

AULA 8

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Enumerar as principais proteínas da matriz extracelular.
- Associar a estrutura das proteínas de matriz às funções que desempenham.
- Analisar a síntese de colágeno.
- Associar deficiências na síntese de componentes da matriz a doenças.

Pré-requisitos

Aulas 7, 8, 16 e 17
de Biologia Celular I
e Aulas 6 e 7 de
Biologia Celular II.

INTRODUÇÃO

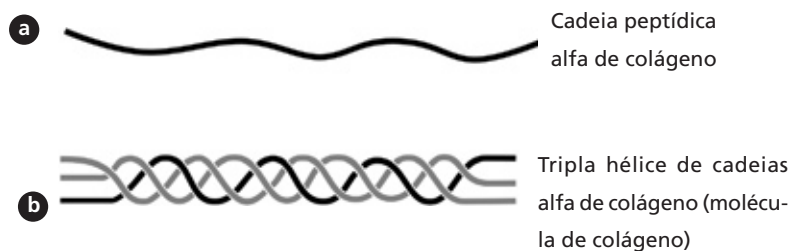
Vimos na aula anterior que, longe de ser uma gelatina de preenchimento, a matriz extracelular é uma estrutura complexa, capaz de conferir resistência e elasticidade aos tecidos. Enquanto o gel formado pela hidratação das GAGs e das proteoglicanas é extremamente resistente à compressão, as proteínas fibrosas de sua composição são responsáveis pela elasticidade e resistência à tensão da matriz. As principais proteínas fibrosas da matriz são os **colágenos** e a **elastina**.

OS COLÁGENOS

Não, não estranhe o plural, os colágenos são uma grande família de proteínas fibrosas presente em todos os animais pluricelulares. Os colágenos são as proteínas mais abundantes nos mamíferos (~25% da massa protéica) e são secretados tanto pelas células do tecido conjuntivo como outros tipos celulares. Tecidos como a pele e os ossos são ricos em colágeno, e a principal função dessas proteínas é contribuir para a integridade estrutural da matriz e manter as células ancoradas a ela.

A molécula de colágeno é formada por uma tripla hélice de cadeias polipeptídicas enroladas umas nas outras, constituindo uma estrutura bastante típica (**Figura 8.1**). Essa tripla hélice se forma espontaneamente porque as cadeias são ricas nos aminoácidos **prolina** e **glicina**. Enquanto a estrutura em anel da prolina estabiliza a tripla hélice, a glicina, por ser o menor aminoácido, permite que as três cadeias de colágeno se aproximem, formando a estrutura final do colágeno.

Figura 8.1: (a) Cada uma das três cadeias alfa de colágeno possui moléculas de glicina regularmente distribuídas. A conformação dessas cadeias alfa favorece o encaixe, de modo a formar a tripla hélice (b) na qual as pequenas moléculas de glicina ficam voltadas para dentro.



Cerca de 25 diferentes tipos de colágenos já foram identificados e, de acordo com suas propriedades, foram sendo agrupados. Os principais colágenos são os **colágenos fibrilares**, que incluem os tipos I, II, III, V e XI. O tipo I é, de longe, o mais comum e o mais importante, predominando na pele e nos ossos. Os colágenos fibrilares formam cordões, como ilustrado na **Figura 8.2**, chamados **fibrilas colágenas**.

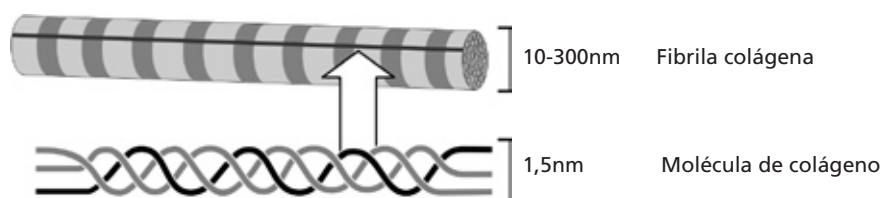


Figura 8.2: As moléculas de colágeno se agrupam em feixes paralelos de 10 a 300nm de espessura, as fibrilas colágenas.

Outro grupo de colágenos é o dos **colágenos associados a fibrilas**. Correspondem aos colágenos dos tipos IX e XII que se associam ao colágeno fibrilar formando estruturas maiores, as **fibras colágenas**, observadas na **Figura 8.3**, ou associando uma fibrila de colágeno com outras proteínas da matriz extracelular (GAGs, proteoglicanas etc.).

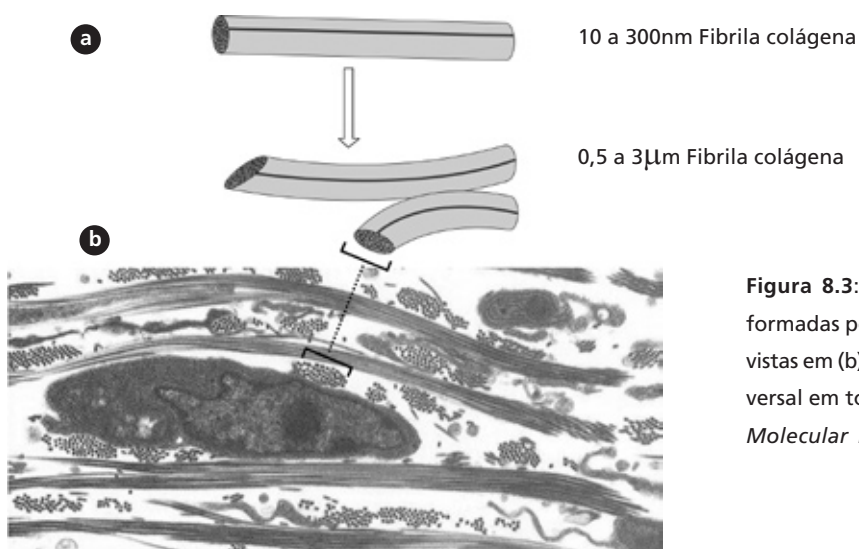


Figura 8.3: (a) Fibras de colágeno são formadas por feixes de fibrilas colágenas, vistas em (b) em corte longitudinal e transversal em torno de um fibroblasto. (Foto: *Molecular Biology of the Cell*, 3rd ed.)

A associação entre os colágenos fibrilares do tipo II e os colágenos associados a fibrilas do tipo IX está esquematizada na **Figura 8.4**.

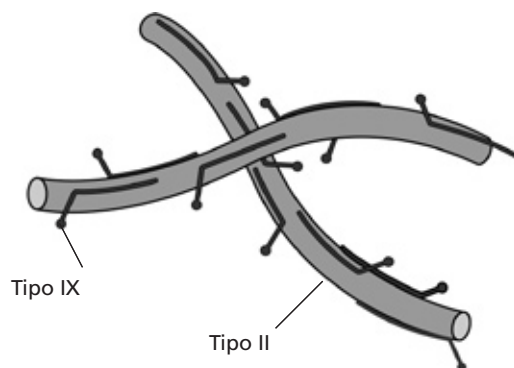


Figura 8.4: Os colágenos associados a fibrilas se dispõem sobre as mesmas, formando, neste exemplo, ligações cruzadas.

Assim, no tendão-de-aquiles as fibrilas colágenas se dispõem paralelamente umas às outras, enquanto na pele elas se entrelaçam em várias direções. Por conta disso, o tendão possui enorme resistência à tração no sentido longitudinal, enquanto a pele é resistente a tensões de modo geral. Nos ossos e na córnea, as fibrilas formam camadas; como num compensado de madeira, cada camada se dispõe transversalmente à anterior, dando grande resistência e pouca elasticidade ao tecido (Figura 8.5).

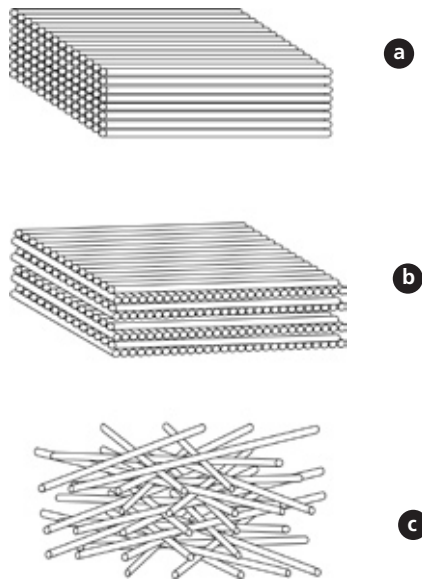


Figura 8.5: O colágeno associado às fibrilas pode formar feixes paralelos, como em (a), ou camadas ortogonalmente alternadas, como em (b), ou feixes cruzados resistentes a trações em vários sentidos (c).



RECORDAR E COMPARAR

Lembra da aula sobre microfilamentos em Biologia Celular I? Pois é, os filamentos de actina podem formar feixes paralelos muito resistentes (as fibras de tensão) ou redes entrecruzadas, de acordo com as proteínas que os conectam (respectivamente alfa-actinina e filamina). Embora as fibrilas de colágeno estejam do lado de fora da célula e sejam muito maiores (e mais fortes) que os filamentos de actina, o princípio de formar feixes e aumentar a resistência é o mesmo. Observe a Figura 8.4 e compare com as da Aula 24.

Nas lâminas basais, estudadas mais adiante, o **colágeno formador de rede** (tipo IV) forma um tapete de filamentos entrecruzados.

Por último, as **fibrilas ancoradoras** – colágenos que auxiliam na conexão das células do epitélio ou endotélio ao tecido conjuntivo que se localiza logo abaixo. Essas fibrilas são abundantes na pele.

A Tabela 8.1 sintetiza as principais características dos colágenos mais conhecidos. Mutações que afetem qualquer um dos tipos de colágeno causam graves malformações em seus portadores (veja o box).

Tabela 8.1: Tipos de colágenos, suas propriedades e localização.

Classe	Tipo	Forma polimerizada	Distribuição tecidual
Formadores de fibrilas	I	Fibrila	Ossos, pele, tendões, ligamentos, córnea, outros órgãos internos
	II	Fibrila	Cartilagem, humor vítreo do olho, disco intervertebral
	III	Fibrila	Pele, vasos sanguíneos, órgãos internos
	V	Fibrila com tipo I	Mesma que para tipo I
	XI	Fibrila com tipo II	Mesma que para tipo II
Associados a fibrilas	IX	Associação lateral	Cartilagens
	XII	Associação lateral	Tendões, ligamentos, outros tecidos
Formadores de rede	IV	Rede em forma de camada	Lâmina basal
	VII	Fibrilas ancoradoras	Abaixo do epitélio escamoso estratificado

POR QUE EXISTEM TANTOS TIPOS DE COLÁGENOS?

É que cada tipo realiza uma função específica. Os colágenos formadores de fibrilas são o tipo básico de colágeno; os associados às fibrilas servem para juntar várias delas e montar feixes altamente resistentes, e os formadores de rede estão localizados na lâmina basal, um verdadeiro assoalho para as células epiteliais e endoteliais. Alguns tipos celulares, monócitos e neutrófilos, especificamente, saem dos vasos sanguíneos e atravessam a lâmina basal das células endoteliais (células que formam o revestimento interno dos vasos) para combater uma infecção em determinado tecido. Para poderem passar pela rede de colágeno, essas células secretam localmente enzimas como a collagenase. Assim, a rede de colágeno se abre e permite a passagem dessas células. Da mesma forma, quando esses monócitos ou neutrófilos chegam ao tecido, necessitam atravessar a lâmina basal das células epiteliais.

AS DOENÇAS DO COLÁGENO

Mutações que afetam a síntese de colágeno, ou outros componentes da matriz, resultam em vários tipos de anomalias, em geral bastante severas. Dentre as mais importantes, podemos citar:

- **osteogênese imperfeita:** causada por mutação do gene para colágeno do tipo I. É um traço dominante, pois, apesar de um dos alelos ser normal, o produto do gene defeituoso impede a correta formação das fibras colágenas;

- **nanismo:** algumas formas são causadas por deficiências do colágeno do tipo II;

- **síndrome do “homem-elástico”:** causada por mutações do gene do colágeno tipo I. O indivíduo afetado tem juntas, tendões e pele hiperextensíveis. Alguns se exibem em feiras de curiosidades e circos;

- **síndrome de Ehlers-Danlos:** causada por mutações do colágeno tipo III. Os pacientes correm o risco de sofrer rompimento das artérias intestinais;

- **síndrome de Alport:** a maioria dos casos envolve mutações para o gene de uma das cadeias do colágeno do tipo IV localizado no cromossomo X. Assim, a herança tem o padrão típico da herança ligada ao X. Outros casos dessa síndrome têm origem em genes autossômicos que codificam outras cadeias do colágeno IV. Os pacientes geralmente apresentam lesões nos glomérulos renais, o que causa a eliminação de sangue na urina. Curiosamente, muitos deles também perdem a audição;

- **hérnias de disco:** algumas famílias possuem mutações no gene para cadeia alfa do colágeno IX, um dos componentes da matriz extracelular dos discos intervertebrais. Esses indivíduos têm grande tendência a desenvolver hérnia de disco.

Entretanto, nem todas as anomalias ligadas ao colágeno têm origem genética:

- **escorbuto:** causado pela deficiência de vitamina C. A falta dessa vitamina impede a hidroxilação da prolina para conversão em hidroxiprolina, um dos aminoácidos fundamentais na cadeia de colágeno. O indivíduo com escorbuto apresenta amolecimento dos dentes, sangramento gengival e infecções bucais pelo enfraquecimento que a falta de colágeno causa aos tecidos;

- **síndrome de Goodpasture:** é uma doença auto-imune em que o indivíduo desenvolve anticorpos contra suas próprias moléculas de colágeno do tipo IV. Como esse colágeno participa da adesão dos epitélios à lâmina basal, esta termina por ser lesada.

COMO OS COLÁGENOS SÃO SINTETIZADOS E SECRETADOS?

As cadeias polipeptídicas que formam o colágeno são chamadas cadeias pró- α e são sintetizadas separadamente umas das outras no retículo endoplasmático rugoso. Cada cadeia pró- α combina-se com outras duas, formando uma molécula helicoidal chamada pró-colágeno. As moléculas de pró-colágeno possuem uma seqüência chamada pró-peptídeo, que impede que as fibrilas se formem ainda dentro da célula, o que seria desastroso. O pró-colágeno é transportado em vesículas secretoras para o meio extracelular, onde os pró-peptídeos serão clivados. O colágeno é uma proteína hidrofóbica, o que facilita a sua agregação espontânea, dando origem a fibrilas e fibras colágenas.

Parece complicado? Realmente a síntese de colágeno é um pouco complexa e utiliza uma série de enzimas, mas não é nada muito diferente do que você aprendeu nas aulas de retículo endoplasmático e complexo de Golgi, de Biologia Celular I. O processo está todo resumido e esquematizado na **Figura 8.6**.

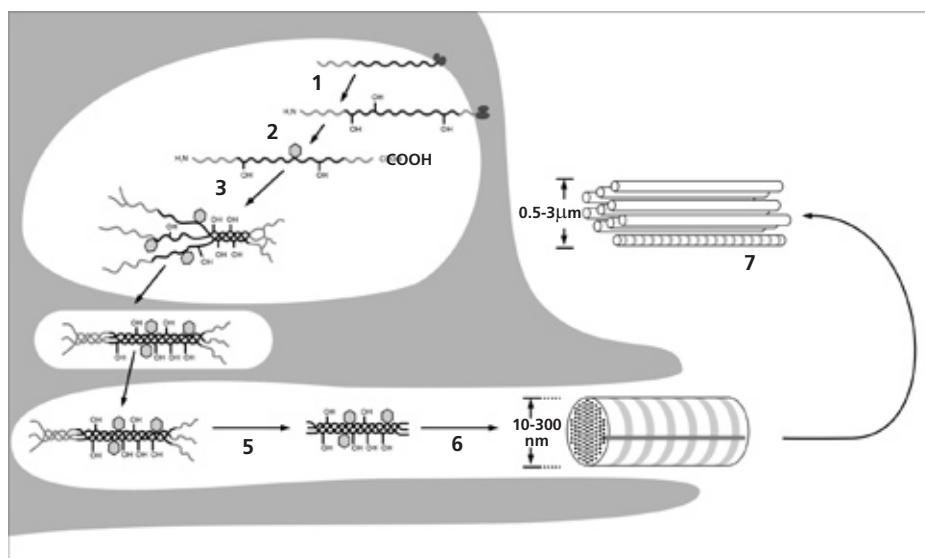


Figura 8.6: O colágeno é formado por três cadeias polipeptídicas que se entrelaçam e formam uma estrutura em tripla hélice no interior do RE. Contudo, a célula não forma essa estrutura de uma vez, ela sintetiza por partes: (1) a célula sintetiza cada cadeia separadamente no RE; (2) cada cadeia recebe hidroxilas e resíduos de oligossacarídeos; (3) ainda no RE essas cadeias se entrelaçam, formando a tripla hélice de pró-colágenos; (4) esse pró-colágeno é transportado em vesículas secretoras para o complexo de Golgi; (5) os pró-colágenos são liberados para o meio extracelular, tendo os pró-peptídeos clivados; (6) passando a se associar uns aos outros, formando as fibrilas de colágenos, que, por sua vez (7), agregam-se e formam as fibras de colágenos. O empacotamento das moléculas apresenta estriações a intervalos regulares de 67nm.

ELASTINA – FIBRAS ELÁSTICAS

Além das GAGs e proteoglicanas, que retêm grande volume de água e conferem à matriz resistência à compressão, e dos colágenos, capazes de suportar tensões, a matriz de alguns tipos de tecido ainda conta com uma proteína que lhe proporciona elasticidade: a **elastina**. Graças à elastina, e às fibras elásticas formadas por ela, os tecidos readquirem sua forma após uma deformação (lembra daquela tia que lhe puxava as bochechas? Se você não tivesse fibras elásticas sob a pele, hoje estaria se parecendo com um buldogue...). Vários tecidos de vertebrados possuem fibras elásticas, o que confere resistência e elasticidade aos órgãos. A parede da aorta, em particular, é totalmente recoberta por elastina. O principal componente dessas fibras é a elastina, que confere elasticidade, de modo que elas possam voltar à forma original após uma distensão temporária.

A elastina é uma proteína hidrofóbica (não gosta da água; semelhante ao óleo, que não se mistura com a água) que é sintetizada e secretada pelas células para o meio extracelular, onde agrupam-se em fibras elásticas próximas à membrana plasmática. A elastina, assim como o colágeno, também é sintetizada numa forma precursora: a tropoelastina.

De que forma a elastina consegue mudar sua conformação, ou seja, distender e depois retornar ao estado original? As moléculas de elastina

são unidas por ligações covalentes, produzindo uma rede entrecruzada. As moléculas de elastina são *encaracoladas*, de modo que cada molécula de elastina pode expandir-se e contrair-se independentemente das vizinhas, como uma mola, de modo que toda estrutura pode ser distendida e retornar à forma original, como uma fita elástica (**Figura 8.7**).

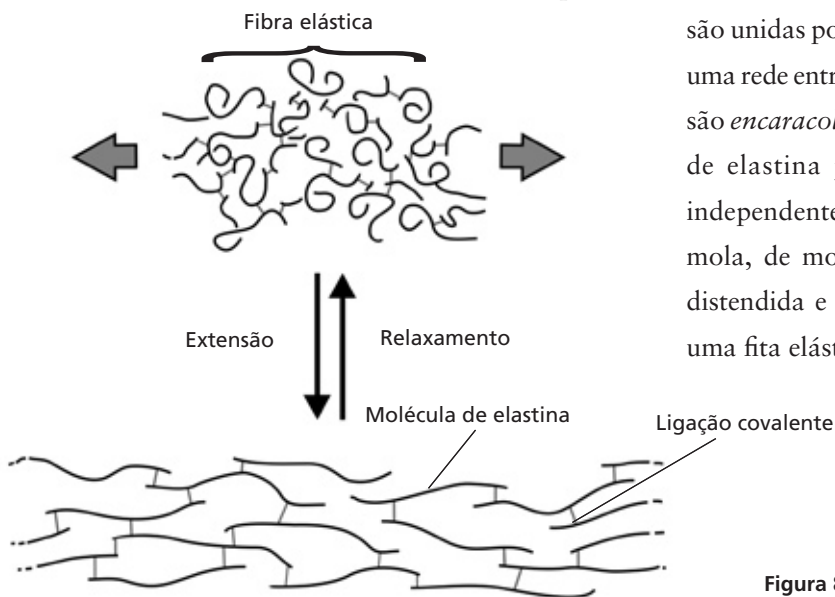


Figura 8.7: As fibras elásticas se encolhem e se distendem individualmente, dando grande elasticidade ao tecido.

As fibras elásticas não são compostas somente por **elastina**. O cerne de elastina é coberto por uma bainha de microfibrilas. As microfibrilas são compostas por glicoproteínas diferentes, incluindo a **fibrilina**. Mutações na fibrilina acarretam a *síndrome de Marfan*, que é relativamente comum em humanos e afeta o tecido conjuntivo. Nos casos mais graves a aorta chega a romper-se, pois a parede da aorta é cheia de elastina. As microfibrilas parecem ser importantes na montagem das fibras elásticas.

FIBRONECTINA – PROTEÍNA ADESIVA

Além dos colágenos e das fibras elásticas, a matriz extracelular possui ainda outras proteínas que atuam na organização e na adesão entre as células e a matriz. Dentre essas, uma das mais importantes e, por isso mesmo, mais estudadas e conhecidas, é a **fibronectina**.

A fibronectina é encontrada em todos os vertebrados e é uma glicoproteína dimérica (**Figura 8.8**). Existem duas formas fundamentais de fibronectina: uma solúvel, presente no plasma e outros fluidos corporais; outra insolúvel, encontrada nas matrizes dos tecidos conjuntivos.

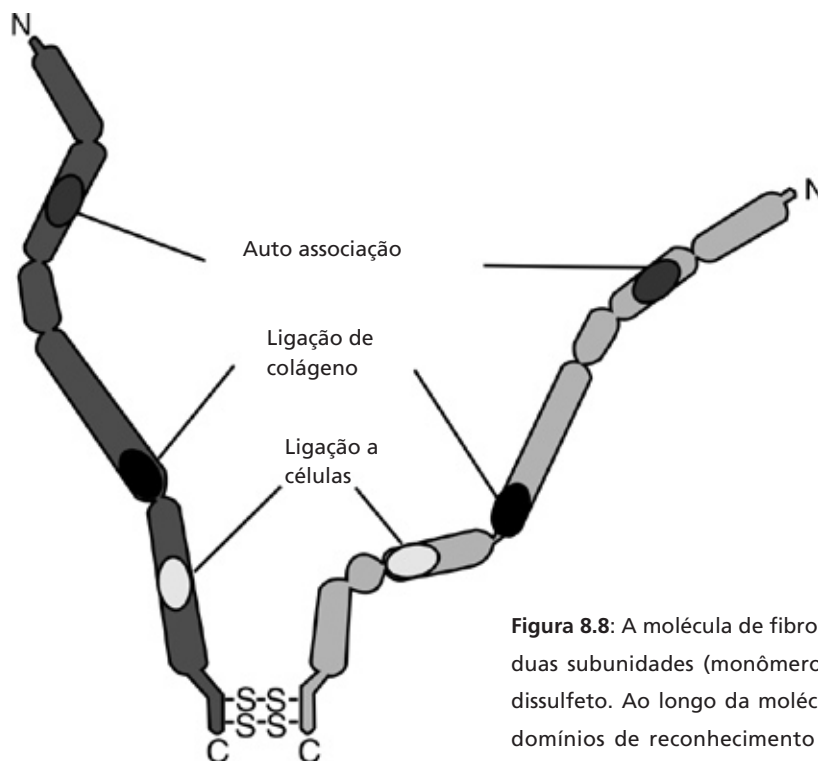


Figura 8.8: A molécula de fibronectina é formada por duas subunidades (monômeros) ligadas por pontes dissulfeto. Ao longo da molécula, dispõem-se vários domínios de reconhecimento de outras moléculas.

Conforme assinalado na **Figura 8.8**, a fibronectina possui sítios que reconhecem e se ligam a diversas moléculas da matriz e da superfície celular. Um dos primeiros domínios a ser identificado foi o que reconhece e se liga à sequência de aminoácidos RGD (arginina-glicina-asparagina). Essa sequência é reconhecida pelas **integrinas**, proteínas transmembrana que você conheceu na Aula 6. Cada tipo de integrina reconhece diferentes moléculas da matriz, o que indica que a sequência RGD não é o único fator de adesão entre células e a matriz. Além disso, a sequência RGD não é exclusiva da fibronectina.

A fibronectina também possui sítios de reconhecimento para colágeno e para outras fibronectinas, de modo que também pode formar fibrilas. Essas fibrilas parecem ter um papel fundamental na progressão das etapas do ciclo celular (Aula 1).

A FIBRONECTINA E A MIGRAÇÃO CELULAR

A fibronectina é muito importante no desenvolvimento animal. Experimentos em que um gene é inativado (e, portanto, não se expressa) demonstram que a ausência de fibronectina em embriões de camundongos resulta em tantos defeitos morfológicos – anomalias na formação da notocorda, coração, vasos, tubo neural – que os embriões morrem precocemente.

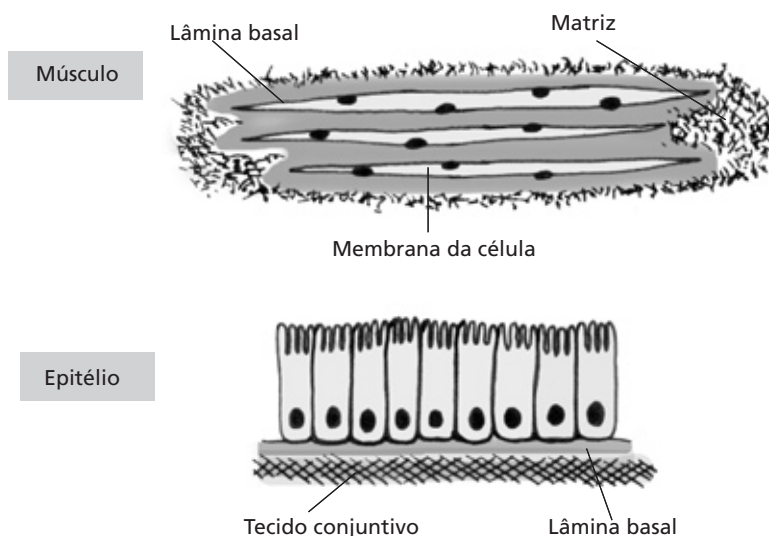
LÂMINA BASAL

Na Aula 7, comentamos que existem dois tipos “básicos” de matriz extracelular: a do tecido conjuntivo e a lâmina, ou membrana, basal. Até agora nos detivemos nos aspectos básicos da MEC do tecido conjuntivo e pouco comentamos sobre a membrana basal.

A membrana basal é um tipo de matriz extracelular especializada. Fina e flexível, ela embasa todos os epitélios, formando uma interface entre estes e o tecido conjuntivo propriamente dito (veja a **Figura 7.1**). Células individualizadas (musculares, adipócitos, células de Schwann) também são envoltas por uma membrana basal (**Figura 8.9**).

O papel das lâminas basais não se limita ao revestimento da superfície basal dos epitélios e dos outros tipos celulares mencionados. A lâmina basal determina a polaridade celular, influencia o metabolismo celular e organiza proteínas em membranas plasmáticas adjacentes, atuando na migração e diferenciação celular.

Figura 8.9: Células musculares isoladas são envoltas por membrana basal. Já os epitélios repousam sempre sobre um tapete formado pela lâmina basal.



A LÂMINA BASAL E A FILTRAÇÃO DO SANGUE

É comum nos referirmos aos rins como os órgãos que filtram o sangue, retirando dele moléculas que serão eliminadas através da urina. Essa filtração ocorre em estruturas chamadas glomérulos renais, nos quais verdadeiros novelos de capilares e o epitélio do glomérulo ficam em íntimo contato, separados apenas pela lâmina basal (Figura 8.10). As células do epitélio renal, assim como a desses vasos, são relativamente espaçadas, e é justo pelos espaços entre elas que o sangue é filtrado. Até aí, talvez não tenhamos contado nenhuma novidade, mas o que apostamos que você não imaginava é que essa lâmina basal é que atua como filtro, selecionando as moléculas que passarão para a urina e as que continuarão no sangue.

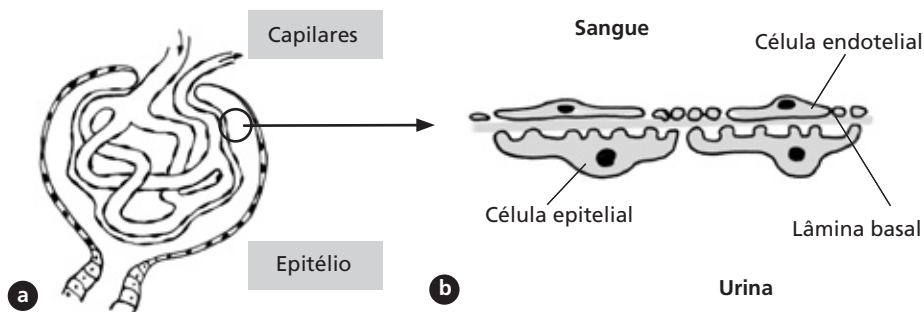


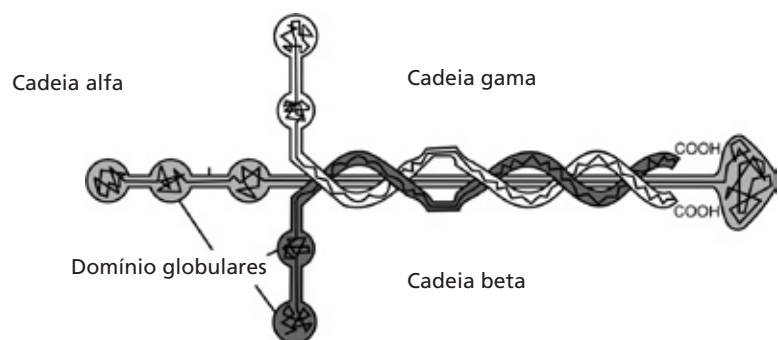
Figura 8.10: No glomérulo renal (a), a membrana basal é compartilhada pelo endotélio do vaso capilar e pelo epitélio glomerular (b).

PROTEÍNAS DA LÂMINA BASAL: LAMININA E COLÁGENO DO TIPO IV

A membrana basal é secretada pelas células que ela envolve e, por sua vez, se ancora à matriz extracelular do tecido conjuntivo por fibrilas de colágeno do tipo VII. Entretanto, os **colágenos** característicos da lâmina basal são os do **tipo IV**, que não formam fibrilas e sim uma lâmina, reticulada e flexível. Além do colágeno IV, compõem a lâmina basal a proteoglicana perlecan e as glicoproteínas **laminina** e nidogênio.

A laminina é uma proteína composta por três longas cadeias peptídicas denominadas alfa, beta e gama (**Figura 8.11**). Juntas, essas cadeias dão à proteína a forma de uma cruz.

Figura 8.11: A molécula de laminina é formada por três polipeptídeos que se associam, formando uma cruz. Vários domínios globulares se dispõem nas extremidades livres das cadeias.



As lamininas podem conectar-se entre si através dos braços da molécula. Além disso, o perlecan e o nidogênio se ligam tanto à laminina quanto ao colágeno do tipo IV, estabelecendo pontes entre eles. Receptores na membrana das células, a maioria pertencente à família das integrinas, reconhecem e se ligam ao colágeno do tipo IV e à laminina, promovendo a adesão das células à lâmina basal. Você pode ter uma idéia de como essas moléculas se dispõem na membrana basal observando a **Figura 8.12**.

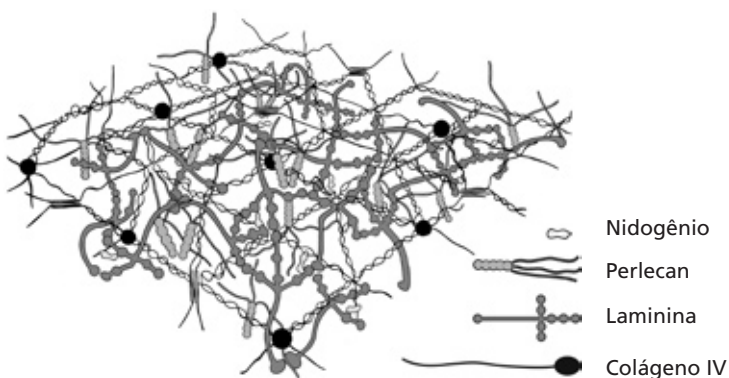


Figura 8.12: Modelo da lâmina basal. Não estão representadas a membrana plasmática e a associação de proteínas integrais desta a componentes da lâmina.

A MEC INFLUENCIA A FORMA CELULAR

Quando fibroblastos são cultivados sobre um gel de colágeno, em poucos dias eles são capazes de orientar as moléculas de colágeno em fibras sobre as quais eles mesmos se orientarão (Figura 8.13).

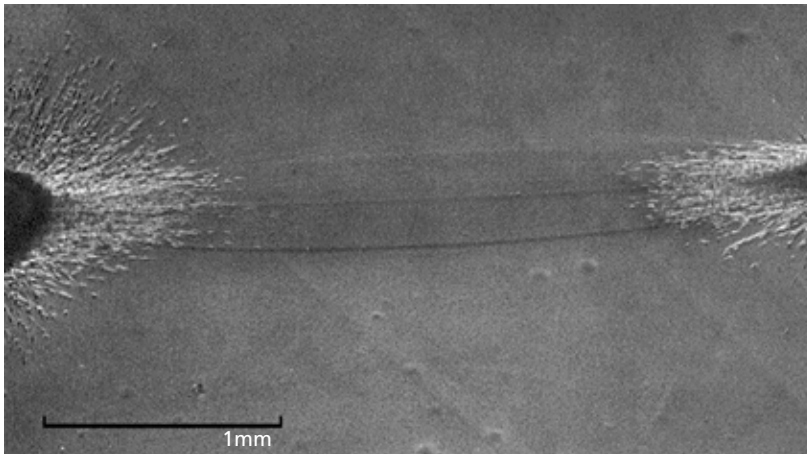


Figura 8.13: Dois fibroblastos de embrião de pinto migram um em direção ao outro sobre um feixe de fibras colágenas organizado por eles mesmos. (Foto: D. Stopak & A. AK. Haris, *Dev. Biol.* 90:383-398, 1082 © Academic Press)

Em contrapartida, a matriz extracelular também é capaz de influenciar a organização do citoesqueleto (daí a forma) celular. Observa-se que células cancerosas produzem menos fibronectina que células normais em cultura, sendo também menos aderentes (daí a maior facilidade de se destacarem e darem origem aos tumores secundários, as metástases). Em alguns casos, quando se adiciona fibronectina a essas culturas, as células tumorais se comportam como se fossem normais, aderindo e formando contatos focais com o substrato.

Assim como o citoesqueleto pode exercer forças que orientam a matriz extracelular secretada, as moléculas da matriz podem, por sua vez, propagar a ordenação entre células, como ocorre, por exemplo, nos tendões (Figura 8.14). Nesse caso, as integrinas atuam como proteínas adaptadoras desse ordenamento entre as células e a matriz em torno delas.



Orientação do citoesqueleto da célula ① orienta a disposição das moléculas de matriz secretadas em torno dela.

A matriz orientada alcança as células ② e ③ e orienta o citoesqueleto dessas células.

As células ② e ③ agora secretam uma matriz orientada em sua vizinhança; assim, a organização de seu citoesqueleto é propagada às células vizinhas (④ e ⑤).

Figura 8.14: O esquema ilustra como a matriz pode propagar a orientação de uma célula para as demais a fim de formar uma estrutura orientada, como os tendões.

CONCLUSÃO

A cada dia novas descobertas são feitas a respeito da participação da matriz extracelular em processos biológicos. Essas moléculas atuam tanto na síntese como na degradação de estruturas (como a absorção da cauda do girino) e, da mesma forma que são secretadas as proteínas da matriz, nessas ocasiões, os fibroblastos produzem enzimas, como a collagenase, que degradam a matriz e conferem enorme plasticidade aos tecidos conjuntivos. Graças a essas propriedades, é possível o realinhamento da arcada dentária, a regeneração de fraturas, a regressão do tamanho do útero após o parto e muitas outras, pequenos milagres sem os quais nossas vidas seriam, certamente, muito mais limitadas.

RESUMO

- Além das proteoglicanas e glicosaminoglicanas, a matriz extracelular possui proteínas fibrosas, os colágenos e a elastina; e proteínas adesivas, a fibronectina e a laminina, esta última na lâmina basal.
- O colágeno é formado por três hélices de um polipeptídeo rico em prolina e glicina.
- Existem diversas formas de colágeno, que podem ser classificadas em: fibrilares, associados a fibrilas e formadores de rede.
- O colágeno é sintetizado pelas células e secretado na forma de pró-colágeno. Depois de clivada a extremidade da cadeia, formam-se espontaneamente as fibrilas.
- A elastina é outra proteína fibrilar que forma redes que podem se distender pelo maior ou menor enrolamento das moléculas de elastina.
- O colágeno confere ao tecido resistência à tensão e a elastina confere ao tecido elasticidade, isto é, após sofrer a tensão ele pode se distender e voltar à forma original.
- A fibronectina é uma proteína dimérica que possui sítios de reconhecimento para várias moléculas: colágeno, integrinas, outras fibronectinas, heparina.
- A lâmina basal é um tipo especial de matriz, secretada pelas células que sobre ela se apóiam. As proteínas mais características da membrana basal são o colágeno tipo IV, formador de redes, a laminina, proteína trimérica que se liga a integrinas, e o colágeno do tipo VII, que faz pontes entre a lâmina basal e a matriz abaixo dela.
- A lâmina basal determina a polaridade celular, influencia o metabolismo celular e organiza proteínas em membranas plasmáticas adjacentes, atuando na migração e diferenciação celular.

EXERCÍCIOS

1. Quais as principais proteínas encontradas na matriz extracelular?
2. Qual a principal característica estrutural dos colágenos?
3. Como se dividem os colágenos?
4. Por que as fibrilas colágenas não se associam ainda dentro da célula?
5. Como é a molécula de elastina? Como são suas redes?
6. Qual o papel do colágeno e da elastina?
7. Qual a importância da fibronectina?
8. O que é a lâmina ou membrana basal?
9. Além do papel estrutural, qual a importância da lâmina basal?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Estabelecer analogia entre a matriz extracelular e a parede celular de células eucarióticas.
- Enumerar os componentes da parede celular.
- Descrever o processo de síntese de celulose.
- Relacionar o crescimento e a forma celular à parede celular.

Pré-requisito

Aulas 5, 6, 7 e 8.

INTRODUÇÃO

As células, com sua membrana fluida e enormes quantidades de água citoplasmática, não são, em princípio, o melhor tipo de “tijolo” que se poderia desejar para construir um organismo pluricelular. Entretanto, são essas pequenas e frágeis unidades que constituem seres grandes e complexos como uma baleia e um coqueiro. No caso dos animais, vimos que as células se integram e constituem tecidos seja por meio de junções celulares, muitas delas com participação de filamentos do citoesqueleto, seja pela secreção de moléculas que constituem a matriz extracelular. Como animais e plantas evoluíram independentemente, as “soluções” encontradas por uns e outros para manter as células de um determinado tecido unidas e funcionalmente coordenadas podem ser bastante diferentes.

Nas Aulas 5 e 6, analisamos a importância das junções intercelulares para a adesão, oclusão e comunicação entre as células dos tecidos animais. Nos vegetais, os plasmodesmata são as únicas junções encontradas, já que a resistência às tensões e a adesão entre as células é feita através da parede celular, que estudaremos agora. Ao longo do processo evolutivo, as pressões sobre animais e vegetais foram de natureza diversa: os animais desenvolveram um sistema nervoso e pelo menos a maioria deles move-se em resposta a estímulos ambientais (perigo, busca por alimento etc). Já as plantas, graças aos cloroplastos, “resolveram” o problema de obtenção de nutrientes sem necessidade de se locomover. Os tecidos vegetais, mais rígidos que o das células animais, formam-se e se mantêm coesos através de um tipo específico de matriz extracelular: a parede celular. Se você duvida do sucesso dessa estratégia, lembre-se das sequóias, árvores gigantescas, maiores que as maiores baleias e de existência mais longa que qualquer ser vivo sobre o planeta.

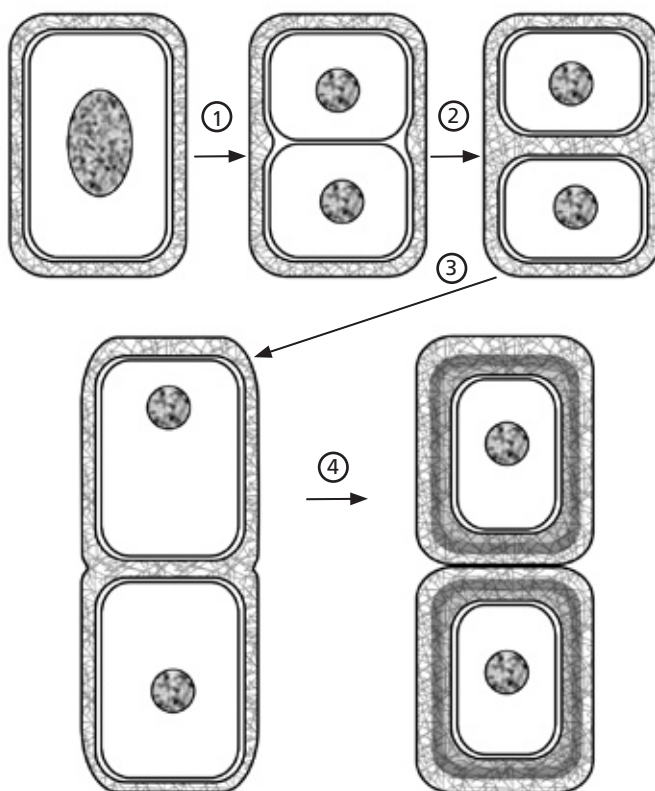
BIOGÊNESE DA PAREDE CELULAR

A parede celular é, em geral, mais espessa e mais rígida que a matriz produzida pelas células animais. A resistência dessa estrutura permitiu que o tamanho médio das células vegetais seja bem superior ao das células animais, embora essa mesma rigidez impeça o seu deslocamento.

Novas células vegetais surgem a partir de mitoses que ocorrem em regiões específicas da planta, os **meristemas**. Vimos na Aula 1 que a parede celular impede que as células-filhas da planta se separem por estrangulamento; assim, forma-se entre elas a **parede primária**. A parede primária é fina e extensível, de modo que as células-filhas possam crescer.

Uma vez completado o crescimento e definida a forma da célula, inicia-se a formação da parede secundária. Esta é produzida pela deposição de novas camadas por baixo da **parede primária**. A **parede secundária** comumente é impregnada por moléculas que aumentam sua rigidez, e, conseqüentemente, o espaço disponível para a célula propriamente dita diminui (**Figura 9.1**).

Figura 9.1: Na divisão de uma célula vegetal ①, forma-se nova parede primária entre as células-filhas ②. A parede primária não impede o crescimento das células-filhas ③. Uma vez completada a etapa de crescimento, camadas de paredes secundárias se dispõem sob a parede primária, diminuindo o espaço ocupado pela célula ④.



CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DA PAREDE CELULAR

Assim como a matriz extracelular, a parede celular é formada por componentes fibrilares que conferem à planta resistência tanto à tensão quanto à compressão; entretanto, diferentemente dessa, as moléculas formadoras da parede celular são basicamente carboidratos, sendo a **celulose** o mais importante deles. Entende-se que seja assim, uma vez que, através da fotossíntese, os vegetais dispõem de uma fonte virtualmente inesgotável de carbono, oxigênio e hidrogênio, enquanto a síntese de proteínas requer também nitrogênio, que as plantas obtêm em muito menor quantidade através de uma relação simbiótica com bactérias fixadoras de N₂.

Além do papel estrutural, a parede celular também confere proteção individual a cada uma das células envolvidas por ela. No processo de diferenciação, as células vegetais assumem diferentes formas e as paredes celulares incorporam moléculas específicas. Essas características permitem classificação e identificação dos diferentes tecidos de um vegetal (Figura 9.2). A impregnação de moléculas como a **lignina** confere à parede celular a dureza e a impermeabilidade características dos vasos condutores de seiva bruta. Também é a parede celular que permite, ou não, a formação de canais que ligam as células, como os **plasmodesmata** entre as células que constituem o floema.

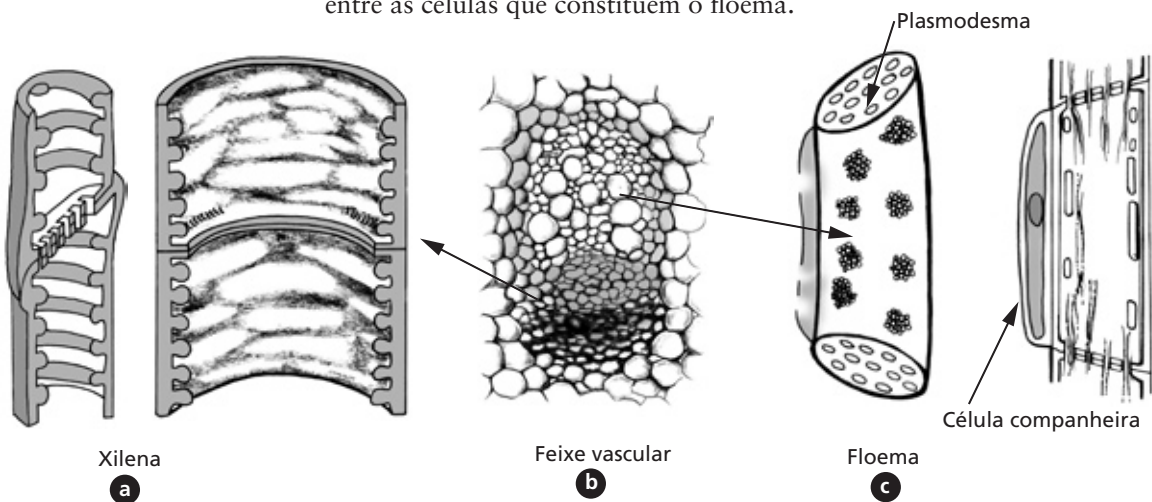
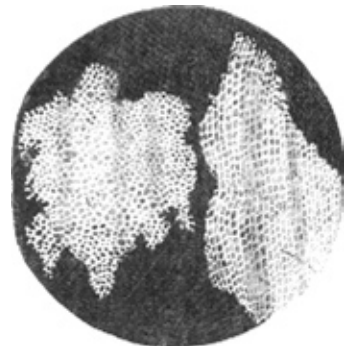


Figura 9.2: Os tecidos vegetais se diferenciam pela forma, tamanho, espessura e composição da parede celular. No exemplo (b), vemos um feixe vascular e em torno dele células do parênquima. Nos detalhes (a) e (c), células do xilema, com parede espessa reforçada por anéis de lignina, formando tubos ocos por onde circula a seiva bruta. Já as células do floema permanecem vivas e se comunicam com as vizinhas pelos plasmodesmata e também com as células companheiras. Nesse caso, as paredes celulares são mais delgadas.

ESTAVA ERRADO, MAS DEU CERTO!

As lâminas de cortiça observadas por Robert Hooke no século XVII nada mais eram do que paredes celulares limitando compartimentos onde as células já haviam morrido. Veja você, ele chamou os compartimentos de células, sem saber que a célula mesmo não estava lá! Essa mesma figura, tirada do livro *Micrographia*, escrito e desenhado por Hooke, ilustrou a Aula 1 de Biologia Celular I, lembra?

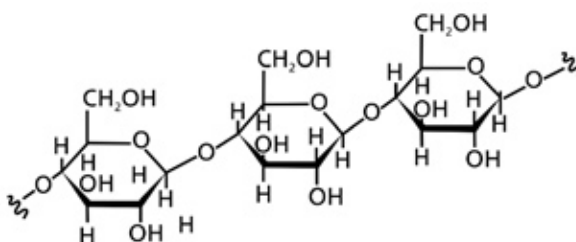


ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR PRIMÁRIA

Nos vegetais superiores, as fibras de **celulose** respondem pelo suporte à tensão, enquanto a **pectina** forma uma matriz hidratada resistente à compressão.

A celulose (**Figura 9.3**) é um polissacarídeo formado por moléculas de glicose ligadas pelo carbono 1 ao carbono 4 da glicose vizinha. Por isso diz-se que a celulose é um polímero β 1-4 de glicose. A celulose, não é difícil imaginar por quê, é a molécula mais abundante na superfície da Terra. As fibrilas de celulose se agregam entre si por pontes de hidrogênio, formando microfibrilas de celulose. A resistência dessas microfibrilas é comparável à do aço!

Figura 9.3: Estrutura da molécula de celulose. A ligação β 1-4 produz longas moléculas lineares.



Na parede primária, essas microfibrilas se dispõem em camadas com diversas orientações. Além das pontes de hidrogênio, **glicanas** que se ligam à superfície de cada microfibrila estabelecem ligações cruzadas entre elas.

O espaço entre as fibrilas de celulose é preenchido pela **pectina**, uma molécula rica em ácido galacturônico (parecido com as GAGs, não é?). Da mesma forma que as GAGs do tecido conjuntivo, a pectina é negativamente carregada, atraindo, assim, muitos cátions e, conseqüentemente, água. Além disso, a pectina é o principal componente da lamela média, que gruda duas células adjacentes (**Figura 9.4**).

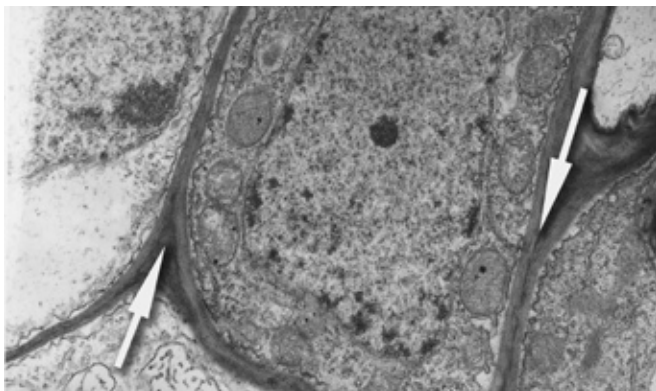


Figura 9.4 : Microscopia eletrônica de células de meristemáticas mostrando as paredes celulares e a lamela média (seta) entre duas células vizinhas. Foto: Raul. D. Machado

Na **Figura 9.5**, se encontram esquematizados os principais componentes da parede celular primária. Compare este esquema ao da **Figura 8.12** e veja como as duas estruturas são análogas.

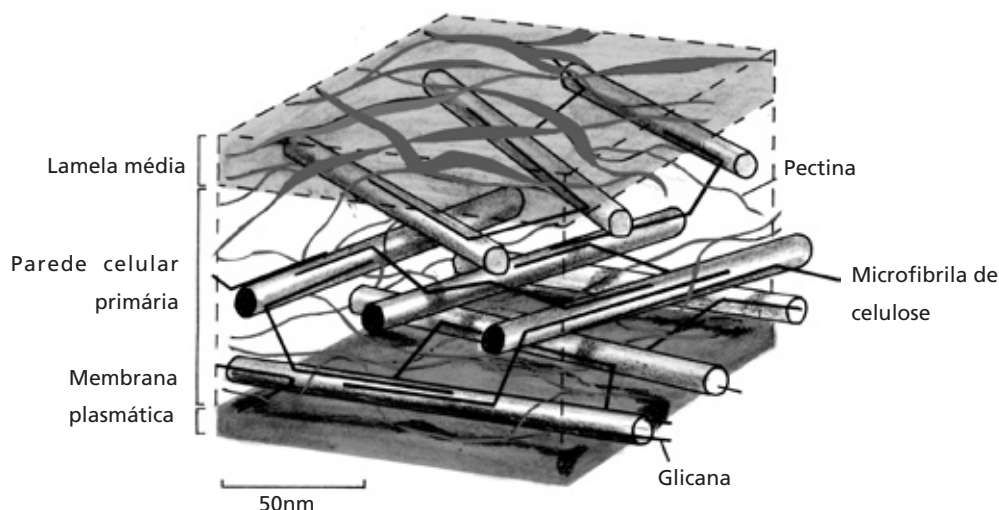


Figura 9.5: Modelo da parede celular primária mostrando seus principais componentes: camadas de fibrilas de celulose ligadas entre si por glicanas e uma rede de moléculas de pectina. Enquanto as microfibrilas de celulose suportam forças de tensão, a pectina responde pela resistência à compressão. A lamela média é formada principalmente por pectina.



DÊ UMA PARADINHA

Na presença de íons Ca^{++} , a pectina forma um gel. Essa propriedade é utilizada na confecção de geléias. Aproveite a paradinha para ir à cozinha e conferir o rótulo daquela geléia que você comprou (e, talvez, fazer um lanchinho com ela!).



Nas paredes secundárias, a deposição de celulose ocorre em orientações alternadas (**Figura 9.6**). Dessa forma, a planta adquire grande resistência ao rompimento.

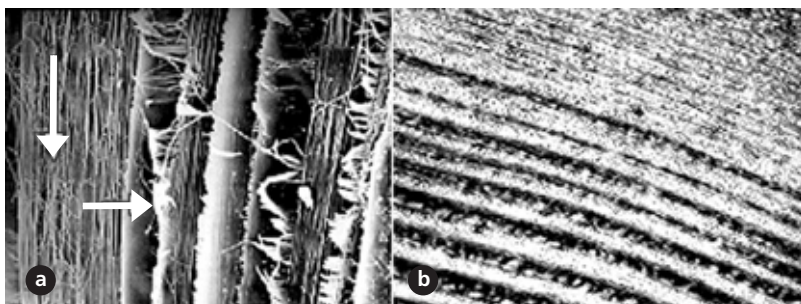


Figura 9.6: Microscopia eletrônica de varredura (a) e de transmissão (b) da parede celular de uma alga. As fibras de celulose de cada camada se dispõem ortogonalmente umas em relação às seguintes. Fotos: Márcia Attias

Além da celulose, das glicanas e da pectina, outras moléculas se incorporam à parede celular conforme a célula se diferencia. A **lignina** é um composto fenólico que confere grande dureza, sendo por isso mesmo característica do lenho das árvores. Embora não sejam majoritárias, as **proteínas** correspondem a cerca de 5% das moléculas da parede e são principalmente enzimas envolvidas com o crescimento e modelagem desta. Entretanto, algumas proteínas parecem ser produzidas em resposta à invasão de agentes patogênicos, com o objetivo de proteger a planta.

FORMA E CRESCIMENTO

O crescimento de uma célula depende de dois fatores: expansão decorrente da pressão de turgor e remodelação da parede celular.

Como observado em todas as células (Aulas 10 a 12 de Biologia Celular I), o meio intracelular é hipertônico em relação ao meio extracelular; assim, as células estão constantemente absorvendo água por osmose. O aumento do volume celular leva a uma pressão hidrostática, de modo que a água contida na célula empurra a parede celular. Isso é chamado pressão de turgor e é essencial tanto para que as células se expandam durante o crescimento quanto para manter a rigidez natural (Figura 9.7).

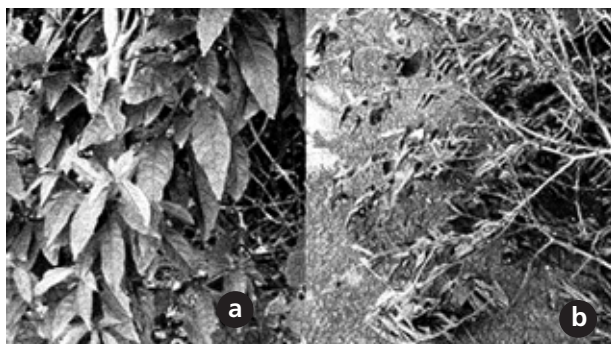


Figura 9.7: A pressão de turgor é a principal responsável pela sustentação das folhas (a). Sem o equilíbrio proporcionado por ela, as folhas murcham, como em (b). Fotos: Márcia Attias

A direção que esse crescimento tomará é determinada pela disposição das microfibrilas de celulose (**Figura 9.8**). Assim, se as fibrilas de celulose estiverem dispostas numa determinada orientação, impedindo a expansão da célula naquele sentido, a célula se alongará no sentido oposto. Bem bolado, né?

As moléculas de celulose são sintetizadas em complexos enzimáticos existentes na própria membrana celular, sendo ejetadas diretamente no meio extracelular, onde se agregam espontaneamente em fibrilas, todas elas com aproximadamente a mesma orientação. Cada nova lamela de celulose forma-se sob a lamela mais antiga, que assim fica mais externa. A orientação das lamelas mais recentes (mais próximas da membrana) parece ter maior influência sobre a direção do crescimento.

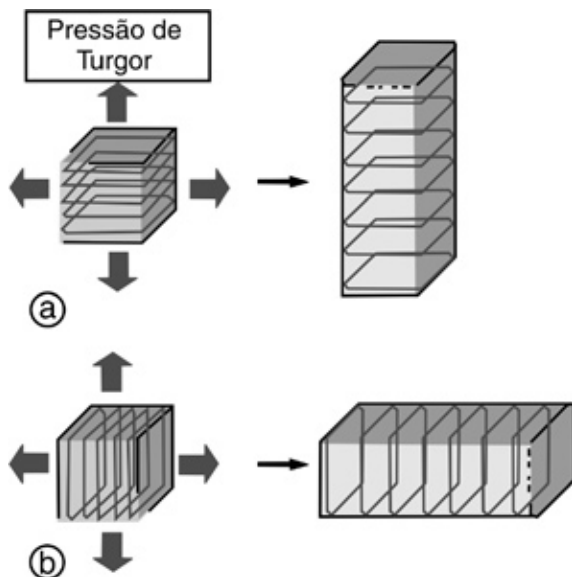


Figura 9.8: Como a orientação das microfibrilas de celulose orienta o crescimento celular. Duas células (a) e (b), inicialmente iguais, podem crescer em direções diferentes de acordo com a disposição de suas fibrilas de celulose da parede primária.

A pergunta lógica seria: “Tá bem, as fibrilas de celulose orientam o crescimento, mas o que orienta as fibrilas de celulose?” Pois bem, sabe-se que abaixo da membrana plasmática dispõem-se paralelamente uns aos outros microtúbulos, e as fibrilas de celulose acompanham a orientação desses microtúbulos. Não se sabe bem como isso acontece, mas supõe-se que proteínas que conectem os microtúbulos à membrana acabem por delimitar um espaço que seria a única alternativa de deslocamento para os complexos de celulose sintase, “obrigando” as moléculas a assumir uma única orientação (**Figura 9.9**).

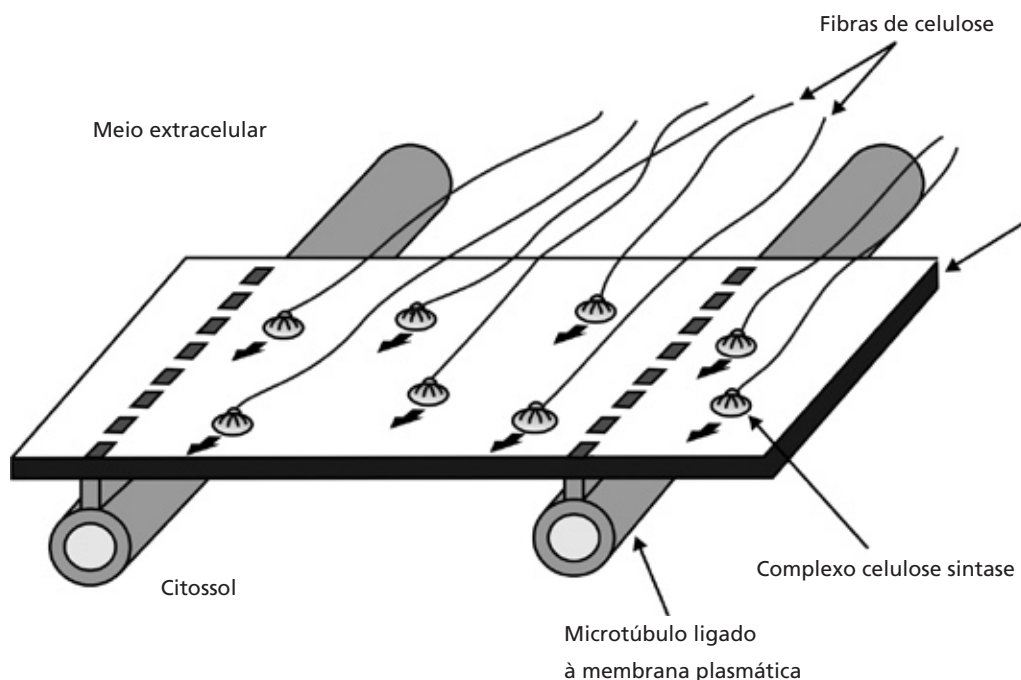


Figura 9.9: Modelo hipotético para explicar a influência dos microtúbulos corticais na orientação das fibrilas de celulose.

CONCLUSÃO

Muitas analogias e comparações são possíveis entre a matriz extracelular das células animais e a parede celular dos vegetais. Ambas são estruturas relacionadas à adesão entre células e sua estrutura é resistente à compressão e à tensão. Enquanto os animais podem se dar “ao luxo” de sintetizar fibras protéicas como o colágeno, as plantas contam com uma matéria-prima barata e abundante, a celulose. Em contrapartida, as GAGs e a pectina possuem muitas características em comum. A parede celular é uma estrutura plástica e importante, servindo para orientar o crescimento celular e apresentando, de acordo com moléculas que a ela se integram, diferentes graus de permeabilidade e resistência.

RESUMO

- Os tecidos vegetais, mais rígidos que os das células animais, formam-se e se mantêm coesos através de um tipo específico de matriz: a parede celular. Ela é formada por componentes fibrilares que conferem à planta resistência tanto à tensão quanto à compressão.
- Novas células vegetais surgem a partir de mitoses que ocorrem na região dos meristemas. Entre as células-filhas forma-se uma parede primária fina e extensível, permitindo o crescimento posterior das mesmas.
- Completado o crescimento e definida a forma da célula, forma-se, pela deposição de novas camadas por baixo da parede primária, a parede secundária; conseqüentemente, o espaço disponível para a célula propriamente dita diminui. A parede secundária comumente é impregnada por moléculas que aumentam sua rigidez.
- As moléculas formadoras da parede celular são basicamente carboidratos: celulose, glicanas, pectina e lignina.
- A celulose é sintetizada em complexos de celulose sintase na membrana plasmática.
- A disposição das fibrilas de celulose acompanha o sentido dos microtúbulos corticais.

EXERCÍCIOS

1. O que diferencia a parede primária da secundária?
2. A que estrutura são análogas a parede celular e a lamela média, respectivamente?
3. Quais os componentes fibrilares da parede celular?
4. Quais os componentes da parede celular que conferem resistência à tensão?
5. E à compressão?
6. Como são sintetizadas as moléculas de celulose?
7. O que orienta a deposição das fibrilas de celulose?

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Estabelecer analogia entre a forma e a função dos neurônios.
- Relacionar as atividades de síntese, transporte e secreção à transmissão nervosa.
- Descrever as etapas de geração e propagação da despolarização da membrana do neurônio.
- Relacionar a polarização e despolarização do neurônio à bomba de Na^+/K^+ e aos canais iônicos.

Pré-requisitos

Aulas de transporte através da membrana plasmática, de Biologia Celular I (7, 8, 9 e 10).
Aula de endocitose, de Biologia Celular I (20).
Aulas de citoesqueleto, de Biologia Celular I (21 a 24).
Aula de tráfego de vesículas, de Biologia Celular I (25).

INTRODUÇÃO

Normalmente, tanto os animais quanto os vegetais se originam a partir de uma única célula – o zigoto –, que se multiplica repetidamente, dando origem aos diversos tipos celulares que se associam, de modo a constituir o organismo complexo, como um pé de couve ou um peixinho dourado.

As células de um organismo são de diferentes tipos porque em cada um deles diferentes genes estão sendo expressos. Isso é o resultado de quatro processos: (1) proliferação celular (a partir do zigoto); (2) especialização, criando diferentes tipos de células a partir de um tipo menos diferenciado; (3) interações entre as células, em que o comportamento de uma célula influencia o comportamento das vizinhas; (4) movimentos celulares, levando à estruturação dos tecidos.

Ao longo do processo evolutivo, as pressões sobre animais e vegetais foram de natureza diversa: os animais desenvolveram um sistema nervoso e, pelo menos a maioria deles, move-se em resposta a estímulos ambientais (perigo, busca por alimento etc.). Na verdade, há uma perfeita correlação entre a complexidade do sistema nervoso e a posição na escala evolutiva: quanto mais desenvolvido o sistema nervoso, mais evoluído é o animal.

As **células nervosas**, ou **neurônios**, são das mais antigas entre as células especializadas; mesmo metazoários muito primitivos, como as planárias, já possuem um sistema nervoso rudimentar.

Os neurônios são células excitáveis, responsáveis por receber, conduzir e transmitir estímulos. Para que essas funções sejam corretamente executadas, além de sua estrutura característica (**Figura 10.1**), é essencial que durante o desenvolvimento eles façam conexões com outras células (veja o box).

Abordaremos nesta Aula, a estreita correlação entre estrutura e função dos neurônios motores, isto é, aqueles que transmitem seu estímulo a uma célula muscular.

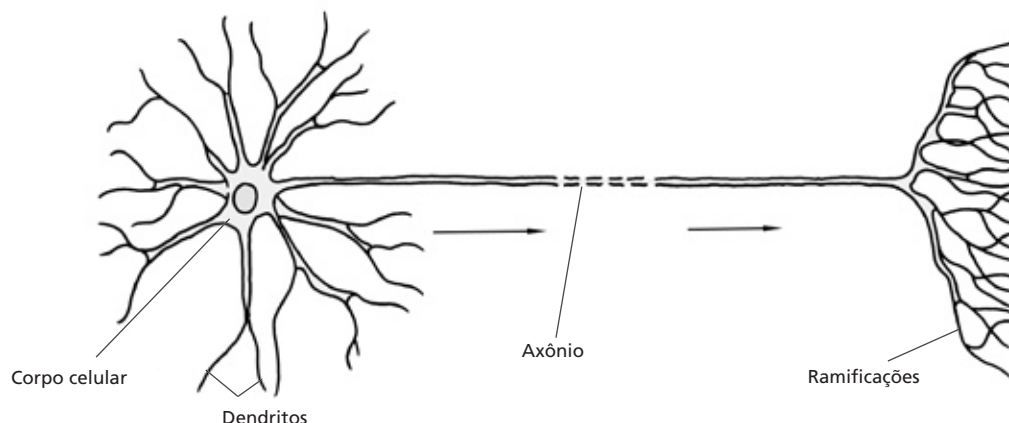


Figura 10.1: O neurônio motor é uma célula dotada de muitos prolongamentos. Os mais curtos são os dendritos, por onde o estímulo inicial geralmente chega; depois é conduzido através de um longo axônio. Próximo à célula efetora (vide box), o axônio se ramifica, distribuindo o sinal por vários pontos simultaneamente. As setas indicam o sentido de propagação do estímulo nervoso.

Neurônios: nunca sozinhos

Como células especializadas em receber e transmitir estímulos, os neurônios estão sempre ligados a outras células. Estas podem ser:

- Outros neurônios – no sistema nervoso central. Nossa relação com o mundo é feita através da atividade e transmissão de impulsos entre os bilhões (isso mesmo, bilhões) de neurônios existentes no cérebro.
- Células glandulares – o sistema nervoso autônomo regula, por exemplo, a secreção de enzimas digestivas no estômago e no intestino.
- Células musculares – tanto a musculatura lisa quanto o músculo cardíaco se contraem sob comando do sistema nervoso autônomo (**VASOCONSTRIÇÃO x VASODILATAÇÃO, TAQUICARDIA x BRADICARDIA**), enquanto os músculos esqueléticos obedecem ao sistema nervoso voluntário. Como essas são as células que *efetivamente* vão responder ao estímulo, são chamadas células **efetoras**.

O QUE É QUE O NEURÔNIO TEM?

Tem tudo aquilo que estudamos até agora. Os neurônios se diferenciam a partir de células chamadas **neuroblastos**. Possuem formatos diversos conforme sua especialização mas, a princípio, todos obedecem à estrutura básica ilustrada na **Figura 10.1**. Essa forma é mantida por um citoesqueleto muito bem organizado, formado por microfilamentos de actina, microtúbulos e um tipo específico de filamentos intermediários, os neurofilamentos, mais longos e com tabiques laterais que mantêm uma certa distância entre eles, impedindo que obstruam o espaço por onde devem trafegar vesículas e organelas.

Esses últimos, você lembra (Aula 22 de Biologia Celular I), possuem um formato diferenciado, que ajuda a manter livre o axônio, por onde trafegam vesículas e organelas.

No corpo celular, além do núcleo, estão presentes e funcionais organelas e estruturas que são nossas velhas conhecidas: mitocôndrias, lisossomas, retículo endoplasmático e complexo de Golgi.

As mitocôndrias dessas células são numerosas e extremamente ativas: os neurônios utilizam apenas, e em grande quantidade, glicose em seu metabolismo, não sendo capazes de utilizar lipídeos.

VASOCONSTRIÇÃO

Contração da musculatura lisa que envolve os vasos, causando diminuição do seu calibre e conferindo palidez à pessoa.

VASODILATAÇÃO

Efeito oposto ao da vasoconstrição. O relaxamento da musculatura lisa leva ao aumento do calibre dos vasos; a pessoa fica com a pele avermelhada.

TAQUICARDIA

Taqui, do grego *tachos*, no sentido de batimentos cardíacos rápidos, acelerados.

BRADICARDIA

O oposto à taquicardia. Também do grego, *bradi*, lento.

Embora nossos neurônios sejam sempre os mesmos (não se dividem e não são repostos caso venham a morrer), há neles uma constante reciclagem de membranas e moléculas, o que requer atividade do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi. Além disso, há a síntese constante de substâncias, os **neurotransmissores**, que são transportados em vesículas até o ponto de exocitose, na extremidade do axônio, por proteínas motoras que se deslocam sobre microtúbulos. Esses microtúbulos se polimerizam a partir do centróssomo, mas, ao atingir determinado tamanho, acabam se desprendendo e *navegam*, como toras de madeira num rio, ao longo do axônio. Como os axônios podem chegar a medir mais de um metro, esse rio seria equivalente ao Nilo ou ao Amazonas!

A membrana plasmática dos neurônios possui, entre outras, proteínas de reconhecimento para moléculas da matriz extracelular e para outras células, propiciando a interação entre elas, o que pode resultar na formação, manutenção ou desaparecimento de contatos entre elas, um fenômeno conhecido como *neuroplasticidade*. É graças a isso que, com os mesmos neurônios que você tinha quando nasceu, foi possível aprender tanta coisa, formar memórias e desenvolver habilidades variadas.

Maravilha!

Eu não sei se você já está maravilhado com os neurônios, células que, utilizando as mesmas moléculas, processos e organelas que as demais, são capazes de receber, conduzir e enviar sinais para outras células, mas confesso que pensar nisso sempre me deixa assim (maravilhada). Como será que elas fazem isso? O mecanismo básico é simples, universal e nós o aprendemos ainda em Biologia Celular I: polarização e despolarização da membrana plasmática.

POLARIDADE DA MEMBRANA, UM MINIFLASHBACK

Vimos na Aula 10 de Biologia Celular I que o meio intracelular é sempre mais rico em solutos (açúcares, proteínas, íons) que o meio extracelular (**Figura 10.2**), o que o torna hipertônico, levando à absorção passiva de água do meio extracelular (osmose). Nos animais, o equilíbrio osmótico é mantido principalmente pela expulsão ativa de íons do meio intracelular através da bomba de sódio/potássio. A atividade da bomba

de sódio/potássio torna a concentração de cátions no meio extracelular maior que no meio intracelular. Assim, o meio extracelular torna-se eletricamente positivo em relação ao meio intracelular e esse, por sua vez, é negativo em relação ao primeiro.

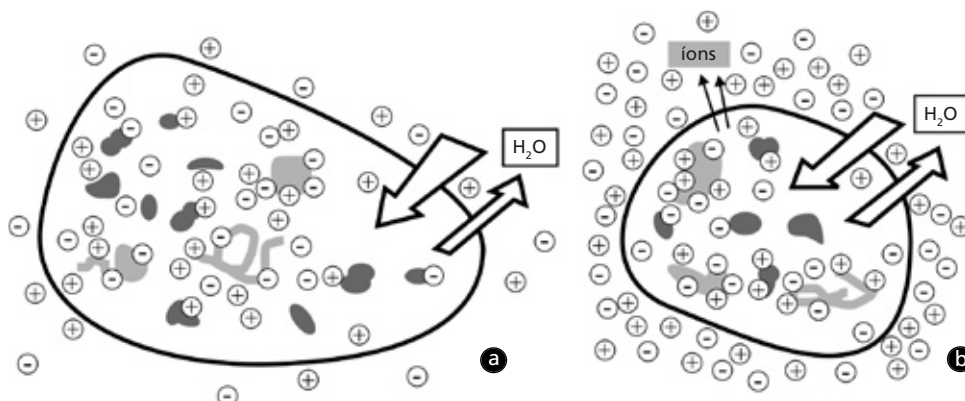


Figura 10.2: As células primitivas (A) tendiam a absorver osmoticamente grande quantidade de água, podendo romper-se. A bomba de sódio/potássio (B) expulsa ativamente cátions do meio intracelular, impedindo que a célula arrebente pela absorção excessiva de água.

Na membrana dos neurônios, não apenas a bomba de sódio/potássio está constantemente expulsando 3 íons Na^+ e internalizando 2 de K^+ , o que já dá um saldo de mais cátions para o meio extracelular; como também parte desse K^+ que se acumula no citossol é *perdida* através de **canais vazantes de K^+** , proteínas tipo canal específicas para K^+ que estão sempre num **ESTADO ABERTO**, aumentando a polaridade da membrana (**Figura 10.3**). Essa é, pois, a situação de *repouso* de um neurônio: bomba de Na^+/K^+ funcionando continuamente e mais íons K^+ sendo eliminados através dos canais vazantes.

Este é um canal diferente dos que estudamos na Aula 11, pois fica sempre **ABERTO**, sem depender de ligante ou voltagem.

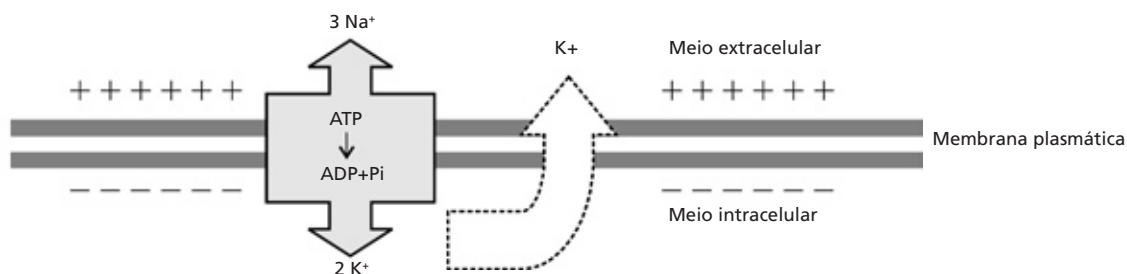


Figura 10.3: A membrana do neurônio se mantém polarizada graças à atividade da bomba de Na^+/K^+ e à presença de canais vazantes de K^+ .

NEURÔNIO EM REPOUSO GASTA ATP!

Gasta, sim. Para se manter ou voltar a estar polarizado, é essencial a participação da bomba de Na^+/K^+ , e é por isso que os neurônios são ávidos consumidores de glicose e O_2 , e também por isso são as primeiras células a sofrerem e a morrerem com a falta dessas moléculas. Mas, e no estado ativo, como será que essas células se comportam?

NEURÔNIOS ATIVOS: A DESPOLARIZAÇÃO DA MEMBRANA

Em princípio, é bastante simples provocar a atividade neuronal: basta induzir a abertura de canais iônicos em sua membrana. Como no estado de repouso a membrana é dita polarizada, ao ser ativada dizemos que ocorre a despolarização da membrana. Na verdade, a membrana não fica sem polaridade, esta é apenas momentaneamente invertida: o interior se torna positivo e o exterior negativo (Figura 10.4).

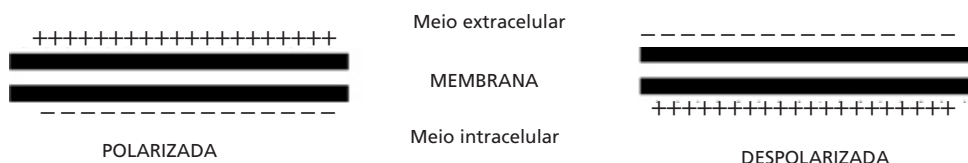


Figura 10.4: Distribuição de cargas nos meios intra e extracelular nos estados de repouso (polarizada) e atividade (despolarizada) da membrana plasmática.

Em repouso, a bomba de Na^+/K^+ mantém o meio intracelular negativo em relação ao meio extracelular. E para despolarização? A abertura de canais de Na^+ leva a um influxo de cátions que torna o interior da célula positivo em relação ao meio extracelular. Logo a seguir, abrem-se canais de K^+ , o que acelera o retorno do potencial de membrana aos níveis de repouso, pois muitos dos íons K^+ acumulados pela bomba de Na^+/K^+ passam para o meio extracelular (Figura 10.5). Após abrir-se, o canal de Na^+ passa por uma fase em que ele fica inativo, chamada *período refratário*, e só então volta ao estado de repouso, quando então pode ser novamente aberto. Isso garante que a onda de despolarização percorrerá o neurônio do corpo celular para o axônio

(Figura 10.6), até alcançar os terminais sinápticos. Por se abrirem um pouco depois dos canais de Na^+ , esses canais de K^+ também são chamados canais de K^+ lentos.

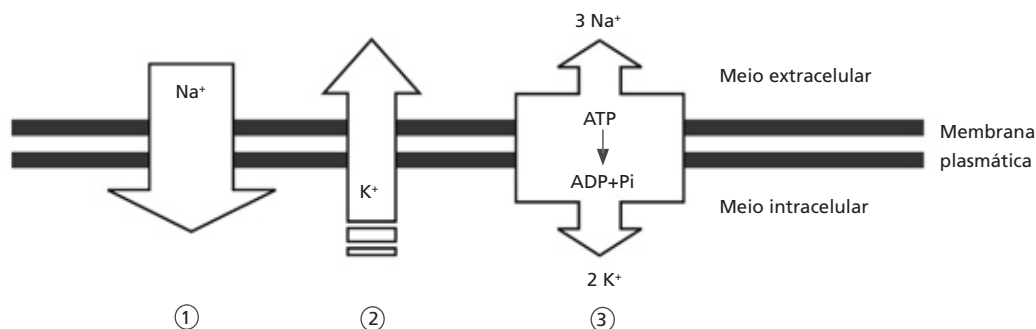


Figura 10.5: A despolarização da membrana ocorre quando abrem-se os canais de Na^+ ① que entram, tornando o meio intracelular positivo em relação ao exterior. Em seguida, ② abrem-se canais que permitem a saída de K^+ e iniciam a repolarização da membrana. Por fim, ③ a bomba de Na^+/K^+ restabelece o potencial de repouso. Para simplificar o esquema, os canais vazantes de K^+ não foram representados.

E o que provoca a abertura desses canais? Sabemos que existem canais iônicos ativados por ligantes e outros ativados por voltagem, além dos ativados mecanicamente. As substâncias capazes de abrir canais iônicos na membrana dos neurônios são os **neurotransmissores** (veja o box após a Figura 10.6).

Na superfície dos neurônios existem tanto canais ativados por ligantes (chamados, nesse caso, neurotransmissores) como canais ativados por voltagem. Isso é muito *econômico* para a célula, pois uma quantidade mínima de neurotransmissor é reconhecida por um canal ativado por aquele ligante específico e se abre, provocando a despolarização da membrana naquele ponto. Essa alteração na polaridade da membrana é suficiente para induzir a abertura de canais ativados por voltagem naquela vizinhança e, a seguir, num ponto mais adiante, fazendo com que a onda de despolarização avance, sem gasto de energia e sem necessidade de mais neurotransmissor, ao longo da membrana do neurônio (Figura 10.6.b).

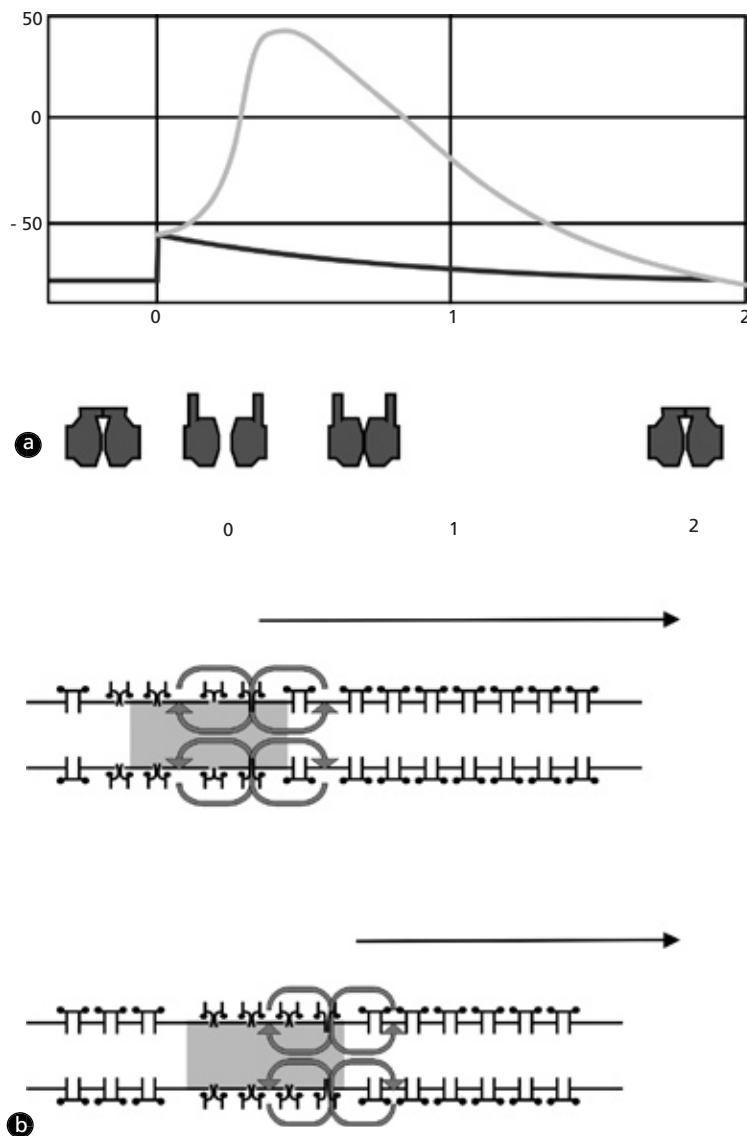


Figura 10.6: (a) O canal de Na⁺, inicialmente fechado, abre-se, disparando ($t = 0$) a despolarização da membrana (pico da curva). Rapidamente ($t = 1$) o canal de Na⁺ passa ao estado inativado, enquanto os canais de K⁺ – não mostrados na figura – abrem-se e iniciam a repolarização da membrana (curva descendente). Na última fase ($t = 2$), o canal já voltou ao estado de repouso e pode ser reestimulado. (b) O período refratário (em que o canal está inativo) garante que apenas os canais ainda não abertos entrem em atividade, propiciando a progressão do estímulo ao longo da membrana do axônio. A área sombreada corresponde à região em que a membrana está despolarizada, com canais inativados na retaguarda e canais se abrindo à frente. As setas apontam o sentido de deslocamento do estímulo.

Certamente você conhece muitos neurotransmissores. Talvez você não saiba que alguns estimulam o neurônio que os recebe (são os **estimulatórios**), outros inibem (são os **inibitórios**). Para inibir um neurônio, o neurotransmissor, ao se ligar ao receptor, abre canais de K⁺ ou de Cl⁻, tornando a membrana ainda mais difícil de despolarizar.

O neurotransmissor mais conhecido e estudado é a **acetilcolina**, que pode ser estimulatório ou inibitório dependendo da situação, e atua sobre as células musculares (mas não apenas sobre elas). Falaremos com mais detalhe sobre a acetilcolina mais adiante. Outros neurotransmissores são:

- O **glutamato** medeia a maior parte dos sinais excitatórios no cérebro dos vertebrados.
- A **adrenalina** é um dos neurotransmissores secretados pelos neurônios do sistema nervoso autônomo. Entre outros efeitos, provoca a aceleração do ritmo cardíaco e a vasoconstrição.
- O ácido gama aminobutírico (**GABA**) é o neurotransmissor inibitório mais importante do sistema nervoso central.
- A **dopamina** é um dos neurotransmissores produzidos por neurônios do sistema nervoso central. Doenças como o mal de Parkinson estão relacionadas à diminuição dos níveis de dopamina.
- A **serotonina** é outro neurotransmissor excitatório secretado apenas no cérebro. Atua sobre neurônios associados a sensações de prazer.
- As **endorfinas** também são neurotransmissores que induzem a uma sensação de euforia. O bem-estar relatado após a prática de exercícios como ginástica e corrida está relacionado à liberação de endorfinas proporcionada por essas práticas.

BAINHA DE MIELINA: RAPIDEZ E EFICIÊNCIA

Embora a propagação de estímulo ao longo da membrana seja bastante rápida, alguns dos axônios de uma pessoa podem chegar a ter mais de 1 metro (e não estamos falando das girafas nem das baleias!). Além disso, como a transmissão ao longo do neurônio é toda feita através da abertura de canais ativados por voltagem, é importante que os neurônios estejam eletricamente bem isolados uns dos outros, para evitar que a despolarização de um neurônio induza à despolarização da membrana de um neurônio vizinho em momento indevido.

Esse isolamento elétrico é proporcionado por células especiais, sobre as quais já comentamos na Aula 8 de Biologia Celular I: as **células de Schwann** (Figura 10.7). A membrana plasmática dessas células se enrola ao redor dos axônios, formando várias bicamadas lipídicas, o que é um ótimo isolante elétrico. Assim, o sinal elétrico trafega pelo interior do axônio e apenas nos **nódulos de Ranvier**, (intervalos entre duas células de Schwann vizinhas) ocorre a abertura de canais de Na^+ e K^+ , seguida da repolarização pela bomba de Na^+/K^+ . Como a despolarização ocorre apenas nos nódulos de Ranvier, diz-se que a propagação do estímulo é **saltatória**.

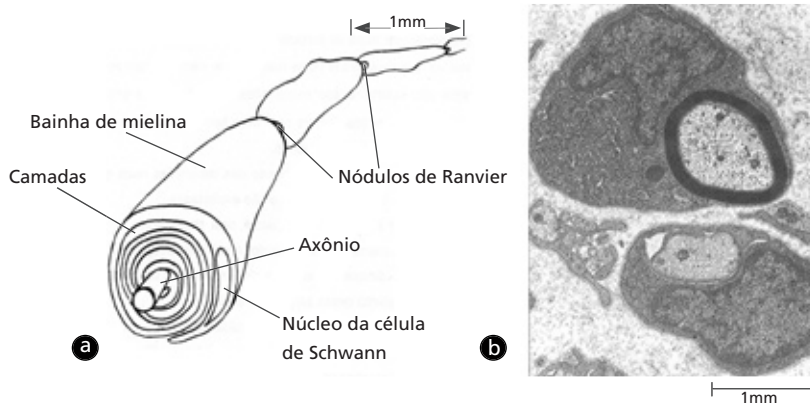


Figura 10.7: (a) As células de Schwann se enrolam, formando a bainha de mielina em torno do axônio, o que confere isolamento elétrico a essa membrana. (b) Microscopia eletrônica de transmissão da bainha de mielina, formando uma espécie de *rocambole* em torno do axônio (foto: Atlas digital da UERJ).

Tão ou mais importante que o isolamento elétrico proporcionado pela bainha de mielina é a rapidez que sua presença confere à transmissão ao longo do axônio. O processo de **mielinização** só se completa cerca de dois anos após o nascimento e é essencial para que o indivíduo se desenvolva plenamente, tanto em termos de inteligência quanto de coordenação motora. A importância da bainha de mielina pode ser bem avaliada pela devastação provocada pela *esclerose múltipla*, doença degenerativa na qual ocorre a destruição das células de Schwann.

A TRANSMISSÃO DO ESTÍMULO PARA A CÉLULA EFETORA: QUÍMICA OU ELÉTRICA?

No início desta Aula, chamamos a atenção para o fato de que os neurônios são células especializadas em receber, conduzir e transmitir estímulos entre células. A região de contato funcional entre um neurônio e a célula seguinte é chamada **sinapse**. Repare que usamos o termo *contato funcional* porque nem sempre há um contato físico entre a membrana do neurônio e a membrana da célula efetora.

Essa transmissão pode ser feita através de junções Gap, estudadas na Aula 6, havendo, portanto, contato entre as conexinas das duas células. Nesse caso, os íons que provocam a despolarização da membrana passam diretamente do citoplasma de uma célula para a célula vizinha. São chamadas **sinapses elétricas** e ocorrem apenas entre neurônios localizados no sistema nervoso central. A transmissão do estímulo nervoso é bem mais rápida nas sinapses desse tipo do que nas **sinapses químicas**, onde há a participação de um neurotransmissor (Figura 10.8).

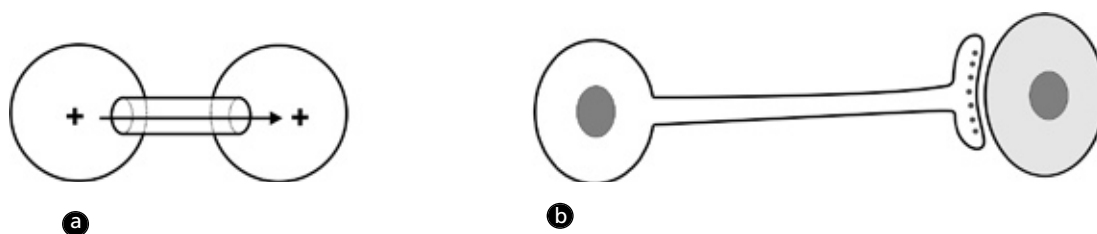


Figura 10.8: (a) Nas sinapses elétricas, o sinal elétrico passa diretamente do citoplasma de um neurônio para o vizinho por junções comunicantes. (b) Nas sinapses químicas, o estímulo elétrico trafega ao longo do axônio (seta longa), um neurotransmissor é exocitado na extremidade (seta espessa) e a célula seguinte o recebe através de receptores de superfície específicos.

TRANSMISSÃO SINÁPTICA QUÍMICA

De todos os sistemas de neurotransmissão química, o mais conhecido é o modelo da transmissão neuromuscular. Isso se deve principalmente ao fato de ser o tipo de sinapse mais comum e mais acessível, por se localizar fora do sistema nervoso central, permitindo assim a montagem de experimentos eletrofisiológicos. Do ponto de vista bioquímico, ajudou bastante a descoberta de que os peixes elétricos (veja o box) são capazes de gerar descargas elétricas usando o mesmo neurotransmissor encontrado nas células musculares esqueléticas dos mamíferos: a acetilcolina. Isso permitiu a purificação e o isolamento do receptor de acetilcolina a partir dos órgãos elétricos desses peixes.

VOCÊ SABIA?

Que o peixe elétrico da Amazônia, ou poraquê, pode chegar a medir 1,5m e pode gerar descargas elétricas de 200 volts? Essa corrente pode matar uma criança e provocar o desmaio de um adulto. O nome científico do poraquê é *Electrophorus electricus* e ele também é conhecido como enguia elétrica. 2/3 do comprimento de seu corpo são ocupados por um tipo específico de tecido, os órgãos elétricos. Sendo quase cego, o poraquê emite descargas elétricas de baixa intensidade para *sondar* o ambiente e, para ataque ou defesa, descargas mais intensas.

- Que, além do poraquê, o *Torpedo marmorata*, uma espécie de raia de água salgada, também é muito utilizada em estudos da transmissão sináptica colinérgica?

- Que o **curare**, usado pelos índios para envenenar flechas, é uma molécula que se liga ao receptor de acetilcolina na membrana das células musculares? Sob seu efeito, a musculatura se relaxa, isto é, o animal fica paralisado e pode ser facilmente capturado.

A SINAPSE COLINÉRGICA

A contração voluntária dos músculos esqueléticos resulta da exocitose de acetilcolina nos terminais nervosos dos neurônios motores, da sua rápida difusão pelo espaço entre estes e a membrana da célula muscular e de seu reconhecimento pelos receptores localizados na membrana das células musculares (Figura 10.9).

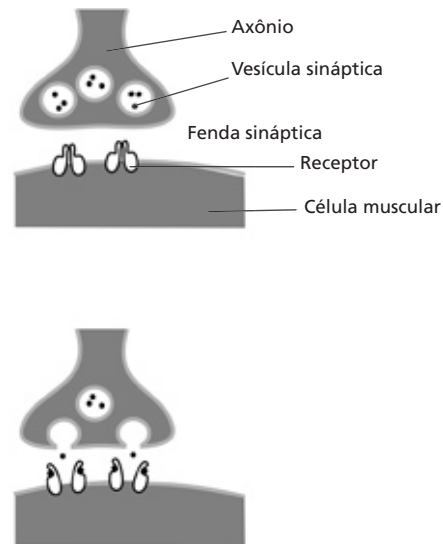


Figura 10.9: Na sinapse química, um neurotransmissor é exocitado na fenda sináptica, sendo reconhecido por um receptor na membrana pós-sináptica.

A primeira pergunta que nos fazemos é: como um estímulo elétrico que vinha percorrendo a membrana é convertido na exocitose de acetilcolina?

A acetilcolina é uma molécula sintetizada no retículo endoplasmático do neurônio, percorre o complexo de Golgi e, como muitas moléculas a serem secretadas, fica armazenada em vesículas de secreção, nesse caso chamadas vesículas sinápticas. A secreção das vesículas sinápticas é um típico processo de secreção regulada (recorde a Aula 25 de Biologia Celular I).

Do corpo celular do neurônio, onde ficam o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi, as vesículas são transportadas para o terminal sináptico por proteínas motoras que as fazem deslizar ao longo de microtúbulos. Tendo em vista o comprimento dos axônios dos neurônios motores, esse transporte axonal pode levar vários dias. As vesículas ficam armazenadas no terminal sináptico, que, por ser mais dilatado que o axônio, também é chamado botão sináptico, até que a onda de despolarização chegue lá (observe a Figura 10.9).

O que provoca a exocitose do neurotransmissor é a existência, apenas na membrana do botão sináptico, de **canais de Ca^{++} ativados por voltagem**. Assim, quando a onda de despolarização chega lá, esses canais se abrem e a entrada de cálcio desencadeia a exocitose simultânea de muitas vesículas cheias de acetilcolina na fenda sináptica (Figuras 10.9 e 10.10).

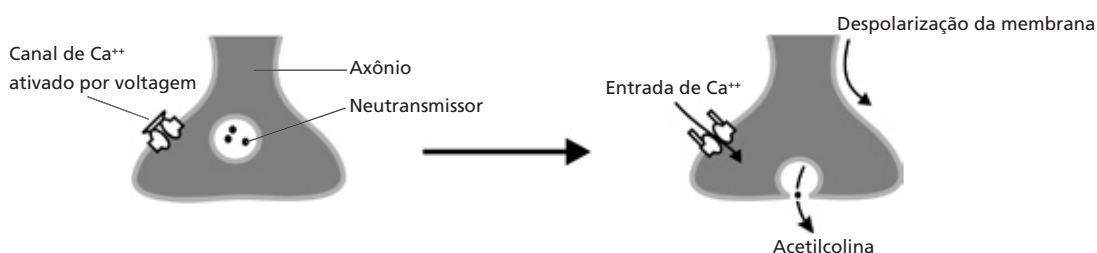


Figura 10.10: A exocitose de acetilcolina depende da entrada de Ca^{++} através de canais ativados por voltagem no terminal sináptico.

O QUE SERÁ QUE A PRESENÇA DE CÁLCIO PROVOCA NO CITOSSOL?

Como estudado na Aula 25 de Biologia Celular I, a fusão de vesículas de exocitose na membrana plasmática depende de proteínas específicas, as SNARES, existentes tanto na membrana das vesículas quanto na membrana do terminal. No botão sináptico, as SNARES complementares da vesícula e da membrana plasmática só se aproximam e interagem – provocando a exocitose – depois que os íons Ca^{++} se ligam a uma proteína da vesícula sináptica, a sinaptotagmina (**Figura 10.11**). A ligação de cálcio faz com que ela estimule a interação de sinaptobrevina e syntaxina (v- e t-SNARE, respectivamente), além de mudar de conformação inserindo-se diretamente na membrana plasmática, onde terá um papel importante na própria fusão das bicamadas lipídicas da vesícula e da membrana, necessária para que o conteúdo da vesícula seja descarregado na fenda sináptica. Assim, a sinaptotagmina é considerada um *sensor de cálcio*, isto é, uma molécula que detecta aumento na concentração de cálcio e, a partir dessa detecção, desencadeia mecanismos em que ela própria participa.

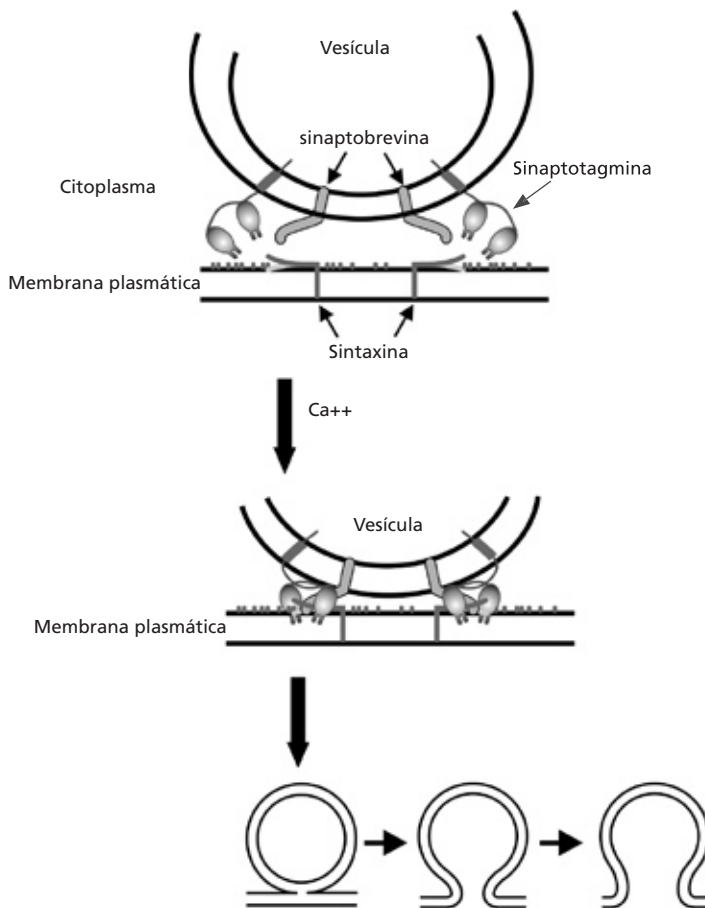


Figura 10.11: Mecanismo de exocitose de uma vesícula sináptica mediado por sinaptotagmina, sensível ao aumento de cálcio, a v-SNARE sinaptobrevina e a t-SNARE sintaxina (esquema adaptado de Tucker & Chapman, *Biochemical Journal* 366: 1-13, 2002).

VOCÊ SABIA

- Que a sinaptotagmina é o alvo da toxina botulínica? Ao se ligar à sinaptotagmina, ela impede a exocitose das vesículas sinápticas, paralisando o músculo innervado por aquele terminal. Isso pode ser fatal em grandes quantidades, se estivermos tratando do diafragma, cuja paralisia leva à morte por asfixia, como no **botulismo**; mas também pode ser bom! Como? Com pequenas quantidades da toxina injetadas em locais estratégicos, com fins terapêuticos, no tratamento do excesso de suor nas axilas e nas mãos, ou com finalidade estética, amenizando rugas de expressão. Isso mesmo, estamos falando do famoso **botox**!

PARA ONDE VAI A ACETILCOLINA DEPOIS DE EXOCITADA?

Depois de liberado na fenda sináptica, o neurotransmissor liga-se ao seu receptor. No caso, o receptor é um canal ativado por ligante, a acetilcolina. Ao abrir-se o canal, a afinidade do receptor pela acetilcolina diminui e ela se desliga, sendo rapidamente hidrolisada por uma enzima específica, a **acetilcolinesterase**, em acetato e colina. A acetilcolinesterase também hidrolisa todo excesso de acetilcolina que possa estar presente na fenda sináptica, de modo que os receptores no músculo não fiquem sendo estimulados sem que haja outro impulso nervoso (já pensou se você *mandasse* o músculo da sua perna contrair uma vez e ele ficasse contraindo várias vezes até acabar o excesso de acetilcolina na fenda?!). Os produtos de hidrólise voltam para o citoplasma do botão sináptico e os componentes da membrana da vesícula sináptica (SNAREs inclusive) são endocitados em vesículas recobertas por clatrina (*coated vesicles*, reveja Aula 20 de Biologia Celular I).

Esse mecanismo é duplamente interessante, primeiro porque impede que o terminal sináptico aumente demasiadamente sua área pela contínua fusão de vesículas; e também porque o acetato e a colina podem ser reciclados, no próprio terminal, por uma enzima específica que os reúne novamente, dando origem à acetilcolina. Novas vesículas sinápticas se formam a partir do endossoma inicial, em que seus componentes de membrana tinham sido incorporados pelas *coated vesicles*, e são em seguida preenchidas com a acetilcolina recém-formada a partir de colina e acetato (**Figura 10.12**), ficando prontas para nova exocitose quando outro impulso nervoso aumentar a concentração de cálcio.

Achou difícil? Que nada! Difícil seria se nossos neurônios motores tivessem de esperar novas vesículas sinápticas virem *láááá* do corpo celular, que pode estar a mais de um metro de distância! Talvez você tivesse de esperar algumas horas para mexer de novo o dedão do pé!

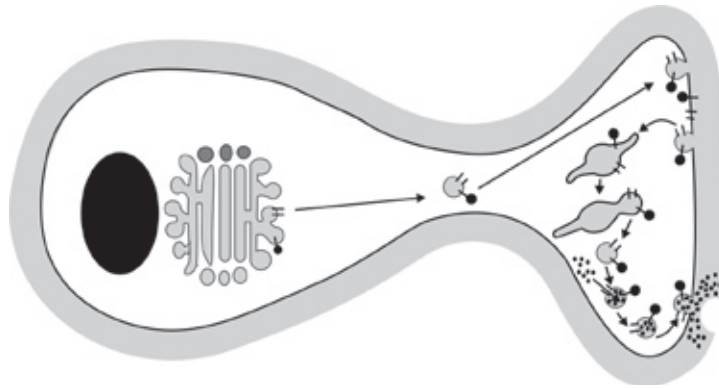


Figura 10.12: As vesículas de acetilcolina se originam primariamente no corpo celular, trafegam pelo axônio (1) e são exocitadas no terminal sináptico. No terminal também ocorre a endocitose dos componentes da membrana da vesícula (2), que se incorporam ao endossoma inicial. Do endossoma brotarão novas vesículas (3) que serão preenchidas com acetilcolina (4) formada a partir de acetato e colina recuperados da fenda sináptica. As vesículas sinápticas estão agora prontas para nova secreção (5).

O RECEPTOR DE ACETILCOLINA

Repetindo: moléculas de acetilcolina são liberadas pelo neurônio motor e se ligam a receptores específicos existentes na membrana da célula muscular. O receptor para acetilcolina é uma proteína integral da membrana do tipo canal (**Figura 10.13**). Quando duas moléculas de acetilcolina se ligam a esse receptor, o canal se abre, deixando entrar íons sódio e desencadeando a abertura de outros canais (estes ativados por voltagem) que propagam o impulso por toda a membrana. Dessa maneira, a membrana da célula muscular é excitada, mas, diferente do neurônio, a resposta da célula muscular é a contração de filamentos de actina de seu citoesqueleto. Esse movimento envolve também a participação da proteína motora miosina e de outras, que você vai conhecer na Aula 11.

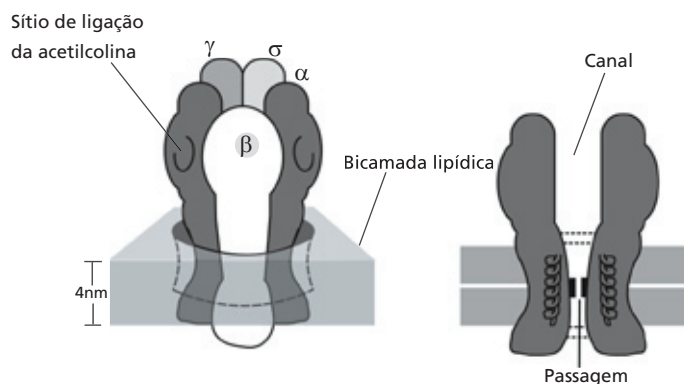


Figura 10.13: O receptor de acetilcolina é um canal ativado por ligante composto por cinco subunidades protéicas transmembrana. As duas subunidades alfa contém o sítio de ligação para acetilcolina. À direita, uma visão em corte do canal. Podem passar cátions pequenos o bastante para não ficarem retidos pelas cargas negativas do interior do canal.

RESUMO

- O neurônio motor é uma célula excitável especializada na recepção, condução e propagação de estímulos a uma célula muscular. A membrana dessa célula é mantida polarizada pela atividade da bomba de Na^+/K^+ e se despolariza pela abertura seqüenciada de canais de Na^+ e K^+ ativados por ligantes.
- A bainha de mielina acelera a velocidade de condução do estímulo.
- Vesículas sinápticas armazenadas na extremidade do axônio são exocitadas em consequência da abertura de canais de cálcio existentes na membrana desses terminais.
- A acetilcolina liga-se a receptores existentes na membrana pós-sináptica (membrana da célula muscular). Esses receptores são canais ativados por ligantes e se abrem, causando a excitação dessa célula.
- A acetilcolinesterase é uma enzima existente na fenda sináptica que hidrolisa a acetilcolina em acetato e colina.
- Esses produtos de hidrólise são recuperados pelo terminal sináptico e reciclados, dando origem a novas moléculas de acetilcolina.

EXERCÍCIOS

1. O que são neurônios?
2. Que particularidades possui o citoesqueleto do neurônio?
3. O que são sinapses? Como se classificam?
4. O que é a polaridade da membrana?
5. O que garante que o estímulo seja propagado?
6. Como a membrana volta ao estado de repouso?
7. Qual o papel do cálcio na transmissão sináptica?

A célula muscular

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Estabelecer analogia entre a forma e a função das fibras musculares.
- Descrever as etapas de excitação e propagação da despolarização da membrana das fibras musculares até o retículo sarcoplasmático.
- Seqüenciar os eventos que constituem a contração muscular.
- Associar o cálcio às proteínas reguladoras da contração.
- Listar e apontar a função das proteínas: actina, miosina, tropomiosina e troponina na contração muscular.

Pré-requisito

Aulas de transporte através da membrana plasmática, de Biologia Celular I (7, 8, 9 e 10). Aulas de citoesqueleto, de Biologia Celular I (21 a 24). Aula de célula nervosa (10), de Biologia Celular II.

INTRODUÇÃO

Na Aula 10, estudamos o processo de geração, propagação e transmissão de um estímulo ao longo de uma célula nervosa. Tomamos como modelo o neurônio motor, aquele que faz contato (sinapse) com uma célula muscular. Nesta Aula, vamos continuar acompanhando esse processo, ou seja, vamos entender como esse estímulo é recebido e *interpretado* pela célula muscular, resultando em sua contração.

As células musculares são altamente especializadas em realizar, sob estímulo, um movimento específico: a contração muscular, tendo por isso mesmo a maior parte de seu volume ocupada por elementos do citoesqueleto. Estamos certos de que você lembra que compete ao citoesqueleto, entre outras funções, definir a forma, posicionar as organelas e possibilitar o movimento de uma célula como um todo ou apenas o deslocamento intracelular de suas vesículas e organelas.

Nos vertebrados são reconhecidos três tipos básicos de tecido muscular: **liso**, **esquelético** e **cardíaco** (Figura 11.1). Cada um deles difere, entre outros parâmetros, quanto à morfologia e à distribuição no organismo.

Os músculos lisos são formados por células fusiformes e uninucleadas. Sua contração é lenta, mais duradoura e involuntária. O músculo liso é encontrado na parede dos vasos e no tubo digestivo.

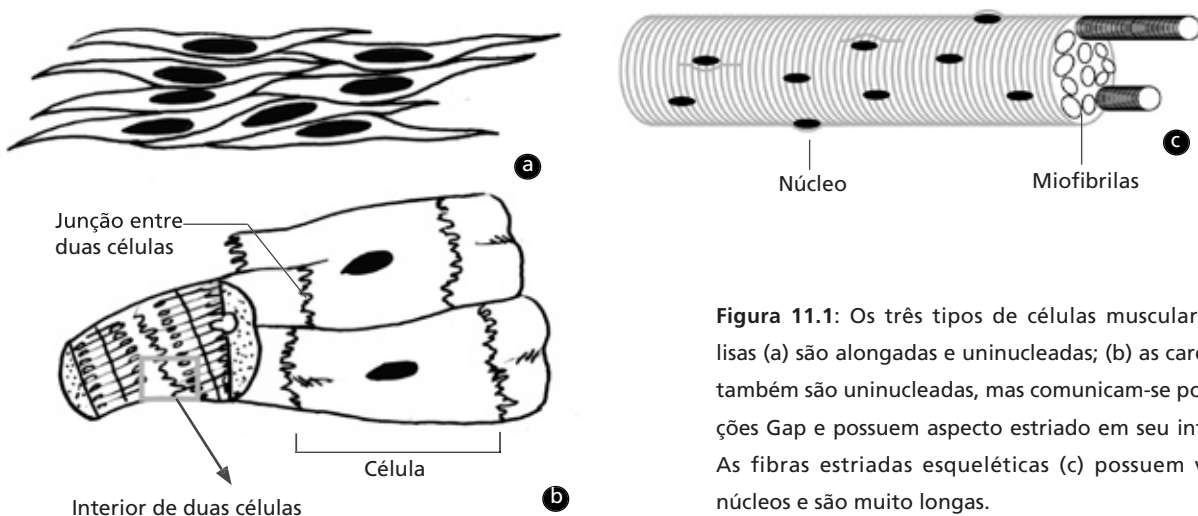


Figura 11.1: Os três tipos de células musculares: as lisas (a) são alongadas e uninucleadas; (b) as cardíacas também são uninucleadas, mas comunicam-se por junções Gap e possuem aspecto estriado em seu interior. As fibras estriadas esqueléticas (c) possuem vários núcleos e são muito longas.

Nos músculos estriados, os filamentos contráteis estão ordenadamente dispostos, dando um aspecto estriado ao tecido. Podem ser de dois tipos: o primeiro é o estriado cardíaco, que só se encontra no coração e é formado por células uninucleadas que se comunicam através de junções do tipo Gap. Essa comunicação faz com que as câmaras cardíacas se contraíam seqüencialmente. A ativação do músculo cardíaco também é involuntária, sendo controlada pelo sistema nervoso autônomo.

O segundo tipo de músculo estriado é o músculo esquelético, que forma a musculatura voluntária, permitindo-nos toda espécie de movimentos. É com essas células que os neurônios motores formam sinapses químicas e é sobre esse tipo celular que vamos nos deter.

ORIGEM

O músculo esquelético é formado por células multinucleadas, ou seja, é o que chamamos **sincício**. Estas células são alongadas, sendo, por isso mesmo, chamadas **fibras musculares** (Figura 11.1.c). Originam-se a partir de células embrionárias chamadas **mioblastos**. Durante o desenvolvimento do organismo, os mioblastos se fundem, dando origem às fibras musculares.

Sendo uma célula altamente diferenciada, a fibra muscular, a princípio, não se divide, porém novas fibras podem se formar pela fusão de mioblastos. De fato, os seres humanos já nascem com o número de células musculares definido. Entretanto, após o nascimento, essas fibras aumentam de tamanho. O alongamento da fibra muscular depende da incorporação de mioblastos às fibras já existentes, aumentando, assim, o número de núcleos em cada fibra. Em contrapartida, o crescimento que se observa em praticantes de musculação e halterofilismo é consequência tanto do aumento da espessura da fibra pelo acréscimo de fibrilas contráteis quanto pela fusão de mais mioblastos a cada célula muscular.

No adulto, persistem alguns mioblastos em estado *quiescente*, que são chamadas células- satélite (ou mioblastos-satélite). Em caso de lesões, muito comuns em atletas, essas células são estimuladas a se proliferar e a se fundir, dando origem a novas fibras musculares. Atualmente há grande investimento em pesquisas que visam a estimular a multiplicação e a diferenciação de mioblastos para regeneração de músculos que tenham sido gravemente lesados (veja a Aula 12).

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DA FIBRA MUSCULAR ESTRIADA ESQUELÉTICA

A fibra muscular esquelética, por resultar da fusão de muitos mioblastos, é uma célula muito maior do que as outras. Enquanto uma hemácia possui cerca de $8\mu\text{m}$ e um fibroblasto cerca de $20\mu\text{m}$ de diâmetro, a fibra muscular estriada mede cerca de $50\mu\text{m}$ de espessura e pode atingir milímetros de comprimento. Isso resultou numa organização estrutural muito precisa e *bem bolada*, para que as fibrilas contráteis pudessem receber rapidamente o estímulo propagado através da membrana plasmática.

A membrana plasmática da fibra muscular (Figura 11.2) é o **sarcolema**. Assim como a membrana do neurônio, ela também é excitável e permanece polarizada no estado de repouso graças à atividade da bomba de Na^+/K^+ . O sarcolema forma invaginações transversais periódicas, os **túbulos T** ou **túbulos transversos** (Figura 11.3). A despolarização da membrana segue ao longo desses túbulos, permitindo que o impulso atinja rapidamente a intimidade da célula, que é bastante espessa ($50\mu\text{m}$ de diâmetro).

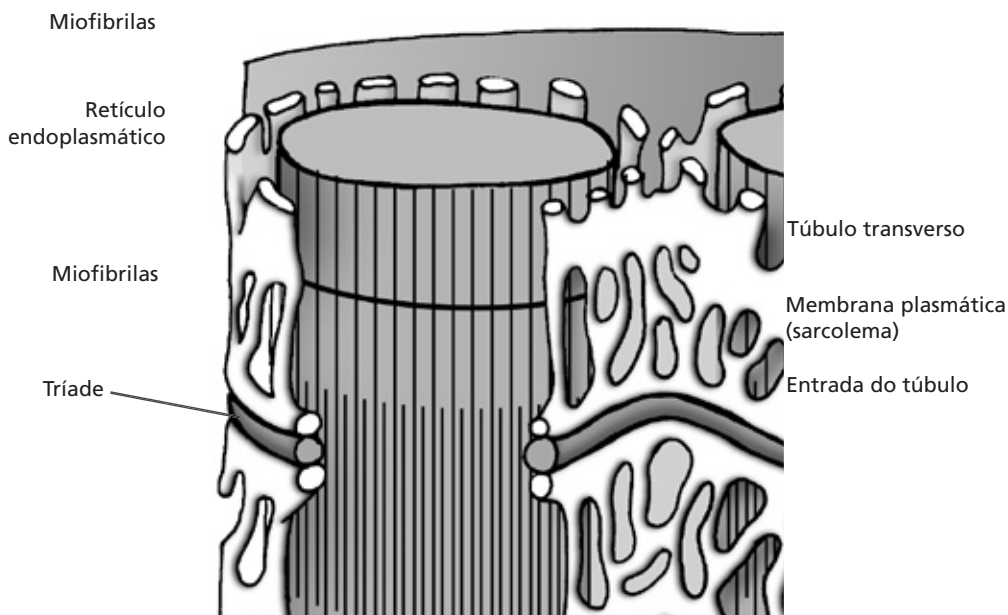


Figura 11.2: Organização geral da fibra muscular esquelética: a membrana plasmática ou sarcolema emite invaginações chamadas túbulos transversos. Abaixo da membrana, cisternas do retículo endoplasmático liso ladeiam os túbulos transversos, formando as triades. As triades envolvem as miofibrilas contráteis.

As estruturas representadas na **Figura 11.2** são as mais importantes adaptações funcionais desse tipo celular. Os núcleos, regularmente espaçados, elementos do retículo rugoso, que não é muito desenvolvido, e outras organelas e estruturas típicas das células de organismos pluricelulares se distribuem no citoplasma periférico. Em torno das miofibrilas também existem muitas mitocôndrias, pois, como veremos mais adiante, a atividade muscular requer muita energia.



Figura 11.3: Estrutura da tríade conforme observada ao microscópio eletrônico de transmissão. Observe a íntima relação entre o túbulo T e as cisternas do retículo adjacentes a ele. (Foto: Clara Franzini-Armstrong)

AS MIOFIBRILAS

Observe atentamente as **Figuras 11.1 e 11.2**. Note que em ambas apenas um fragmento da fibra muscular esquelética foi representado. Na **Figura 11.4**, você pode ver que essas células são extremamente longas, se comparadas a hepatócitos, linfócitos ou outras células animais. Portanto, na **Figura 11.2**, está representada apenas uma “fatia” da célula, isto é, a célula muscular esquelética é longa e relativamente volumosa quando comparada a outros tipos celulares.

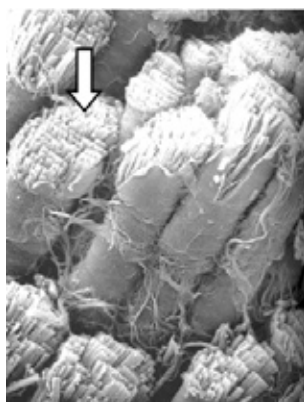


Figura 11.4: Um fragmento de músculo foi fixado, congelado e clivado, expondo as miofibrilas (seta) no interior de cada fibra. Note que elas ocupam quase todo o espaço intracelular. As fibras sobre a superfície externa são de colágeno. (Foto: I.-I. Sei Watanabe em: *Scanning Electron Microscopy of Cells and Tissues of the Oral Cavity*. 1998)

A maior parte desse volume é ocupada pelas **miofibrilas**, que correspondem a cerca de 2/3 do peso seco das fibras musculares. Em cortes longitudinais (**Figura 11.5**), é possível ver ao microscópio óptico que cada uma delas é formada por unidades estriadas que se repetem, formando bandas claras e escuras alternadas (daí o nome músculo estriado).

Figura 11.5: Fibras musculares esqueléticas em corte longitudinal.

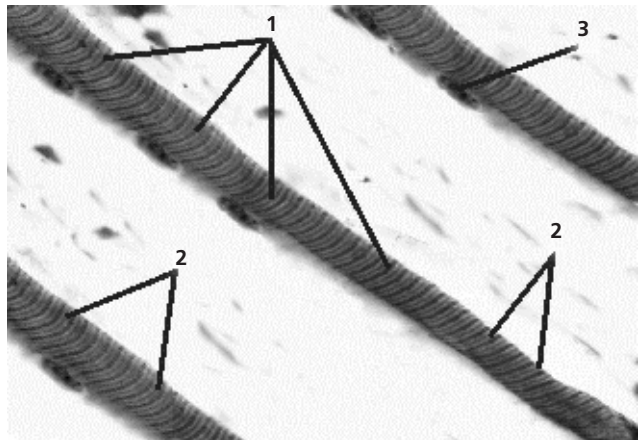
(1) Bandas escuras

(2) Bandas claras

(3) Núcleo periférico

A imagem original pode ser observada em maiores aumentos no site <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/Muscular/Musc0.htm>

(cortesia: Atlas Digital do Lab. Microscopia Eletrônica UERJ).



Combinando métodos bioquímicos, microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão, foi possível ver que as bandas claras são formadas principalmente por actina e as bandas escuras por feixes espessos, formados por moléculas de miosina (**Figura 11.6**).

Além das bandas claras e escuras, o microscópio eletrônico de transmissão também mostrou que cada banda clara estava dividida por uma linha mais escura, a linha, ou, melhor dizendo, o disco Z. Também foi possível ver que, quando a fibra estava contraída, o espaço entre duas linhas Z diminuía. Concluiu-se, então, que a unidade de contração, ou sarcômero, é constituída por uma banda escura e as duas hemibandas claras adjacentes a ela, além dos discos Z. A contração consiste, essencialmente, na interpenetração entre as bandas claras (filamentos de actina) e as escuras (feixes de miosina) (**Figura 11.7**).

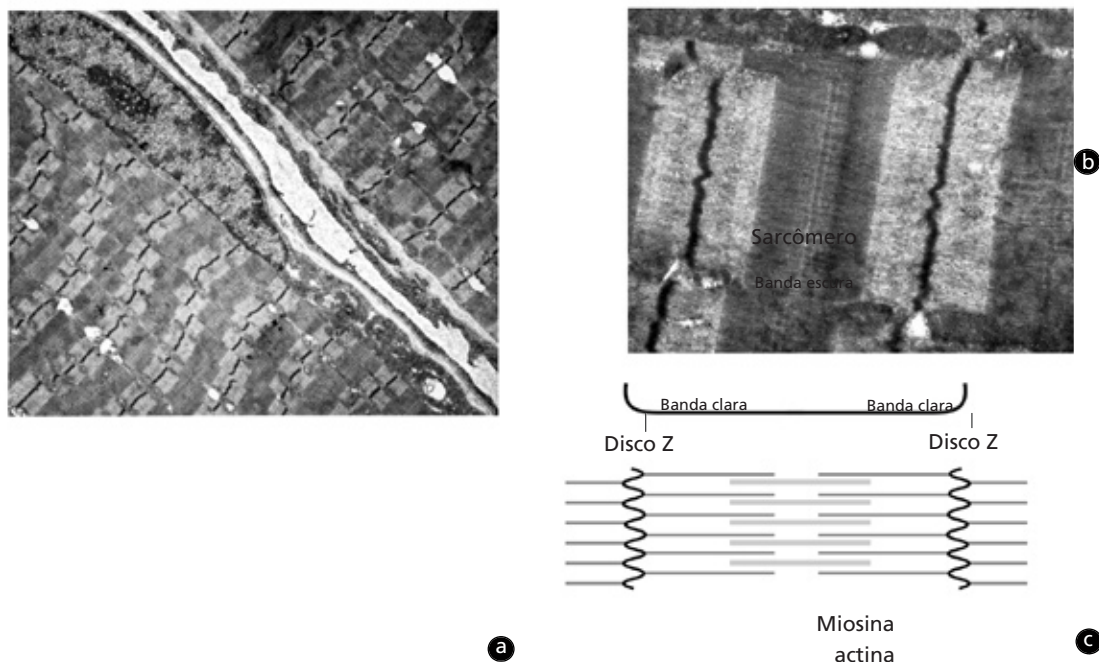


Figura 11.6: (a) Miofibrilas em corte longitudinal observadas ao microscópio eletrônico de transmissão. (b) O sarcômero, ou unidade de contração, é constituído por dois discos Z de onde partem microfilamentos de actina. Esses microfilamentos interpenetram feixes de moléculas de miosina, formando a banda escura, como mostrado no esquema em (c). (Fotos de Thais Souto Padrón)

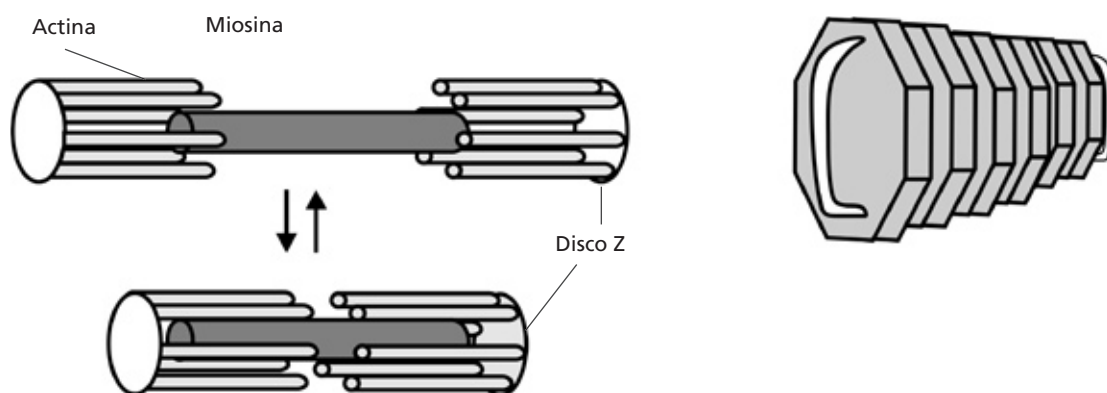
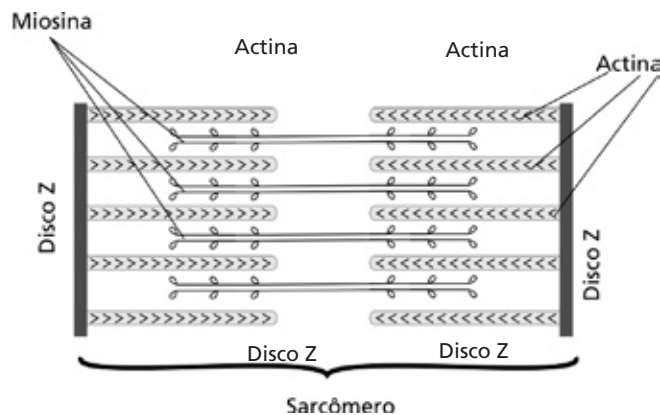


Figura 11.7: Na contração muscular, os filamentos de actina deslizam sobre os feixes de miosina. Há seis filamentos de actina ao redor de cada feixe de miosina. Os sarcômeros encolhem, como os gomos de uma sanfona.

O disco Z contém as proteínas **alfa-actinina** e **desmina**, que você já conhece, e a **cap Z**, na qual os microfilamentos de actina ficam presos e protegidos contra a despolimerização. A alfa-actinina, que é uma proteína espaçadora, arranja os microfilamentos de maneira regular e equidistante em torno do feixe de miosina.

Se você não se esqueceu da Aula 24 de Biologia Celular I, sabe que os filamentos de actina são polarizados, isto é, possuem uma extremidade *plus* e uma *minus*. Esses filamentos se inserem nos discos Z sempre pela extremidade *plus*. Assim, os filamentos de actina de cada hemibanda clara do sarcômero estarão sempre em oposição (**Figura 11.8**), o que explica muito bem por que os filamentos à esquerda se deslocam para a direita e os da direita para a esquerda.

Figura 11.8: A orientação dos filamentos finos e espessos em cada sarcômero faz com que a contração seja sempre em direção ao centro deste.



Como os microfilamentos no sarcômero estão estabilizados pela **cap Z** e por outras proteínas (veja o box), não estão sujeitos à instabilidade dinâmica. Assim, seu movimento depende sempre de uma proteína motora: a **miosina do tipo II**.

Como já vimos na Aula 24 de Biologia Celular I, mas não custa lembrar, essas moléculas são compostas por duas cadeias pesadas e quatro cadeias leves (**Figura 11.9**). As cadeias pesadas possuem, cada uma, uma cabeça globular e uma cauda. As caudas se entrelaçam e mantêm as cadeias pesadas unidas. Já as cabeças globulares ficam expostas e a elas se associam as cadeias leves. A geração de força para a contração depende da hidrólise de ATP, e o sítio catalítico para esta hidrólise reside na porção globular da cadeia pesada. A região da molécula de miosina que fica entre a cabeça globular e a cauda (equivaleria à região do *pescoço* da molécula) é flexível, como uma dobradiça.

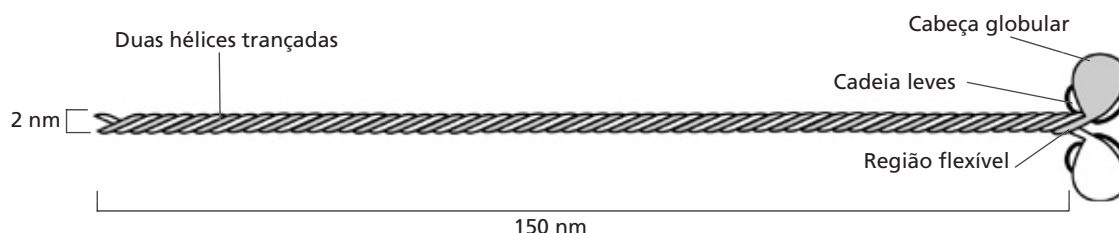


Figura 11.9: A molécula de miosina do tipo II possui duas cadeias pesadas compostas de uma cabeça globular e uma cauda. Essas caudas se entrelaçam. As cadeias leves se posicionam próximo às cabeças globulares. As cabeças globulares possuem atividade ATPásica e um sítio de ligação com a molécula de actina. A região entre a cauda e as cabeças globulares é flexível.

Quando comparada a outros tipos de miosina, chama a atenção o comprimento das caudas da miosina muscular. Essas caudas são ricas em aminoácidos hidrofóbicos e, por isso, além de se entrelaçarem duas a duas, agregam-se em feixes que constituem os filamentos espessos, onde as porções globulares ficam bem expostas (**Figura 11.10**).

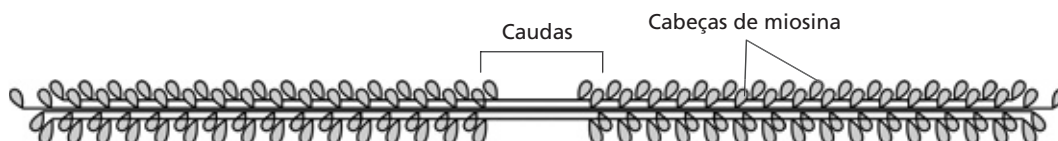


Figura 11.10: As moléculas de miosina se agregam pelas caudas, formando feixes onde metade das moléculas está orientada num sentido e a outra metade no sentido oposto. As cabeças globulares ficam expostas na superfície de todo o feixe e são excluídas apenas da região central, onde só há caudas.

Em resumo, a miosina possui duas características biológicas fundamentais, ambas localizadas na cabeça globular de suas cadeias pesadas:

1. a miosina é uma ATPase;
2. a miosina se liga a um sítio específico do filamento de actina-F.

Actina, miosina e...

A estrutura tão organizada do sarcômero, com os filamentos de actina todos do mesmo comprimento e tão *esticadinhos*, deslizando sobre os feixes de miosina, depende de outras proteínas, que estão sendo descobertas aos poucos. Além da alfa-actinina e da cap Z, formando o disco Z, já foram identificadas as seguintes proteínas (Figura 11.11):

Tropomodulina: associa-se à extremidade *plus* dos filamentos de actina, protegendo-a contra a perda de monômeros.

Titina: a molécula desta proteína mede mais de $1\mu\text{m}$! Uma das extremidades da titina se liga ao disco Z e a outra ao feixe de miosina. A molécula de titina é espiralada e elástica, e encolhe conforme o sarcômero se contrai.

Nebulina: é uma proteína que acompanha o filamento de actina em toda a sua extensão.

Tropomiosina: é outra proteína em forma de bastão que acompanha o filamento de actina. Tem importante papel na regulação da contração, como veremos adiante (veja Figura 11.15).

Troponina: também é uma proteína reguladora da contração e se liga à tropomiosina. Veja Figura 11.15.

Mais adiante vamos estudar como as proteínas reguladoras atuam.

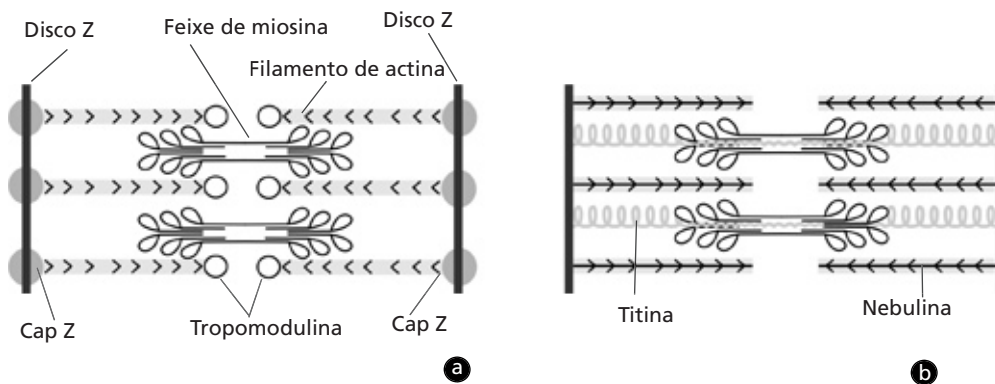


Figura 11.11: (a) Esquema representando a posição das proteínas cap Z e tropomodulina, que estabilizam as extremidades dos filamentos de actina, evitando que sofram despolimerização. (b) As proteínas titina e nebulina contribuem, respectivamente, para manter esticados os filamentos de actina e para facilitar o retorno do sarcômero ao estado relaxado.

INTERAÇÃO ACTINA-MIOSINA: A CONTRAÇÃO DO SARCÔMERO

Bem, temos agora todos os elementos para entender como a interação actina-miosina resulta na contração dos sarcômeros e do músculo como um todo.

Na **Figura 11.12** estão esquematizadas passo a passo todas as etapas dessa interação. Vamos, portanto, acompanhá-la.

1. Uma molécula de ATP liga-se a uma das cabeças da molécula de miosina. Nesta situação, a ligação actina-miosina não é possível (fibra relaxada).

2. O ATP ligado é hidrolisado a ADP + P_i , mas os produtos da hidrólise permanecem associados à cabeça da miosina. Nesta etapa, a cabeça da miosina já muda de posição, aproximando-a do filamento de actina, ao qual se liga fracamente.

3. A ligação inicial entre miosina e actina dispara a liberação do P_i , o que faz com que a miosina se ligue, agora fortemente, à actina.

4. Uma vez ligada à actina, a miosina sofre nova mudança conformacional, o que gera um forte “puxão” no filamento de actina, durante o qual o ADP é liberado.

5. Enquanto não se ligar a outro ATP, a cabeça de miosina permanecerá fortemente ligada à actina numa situação descrita como “rigor”. Em condições normais, onde há constante suprimento de ATP, esse período é muito curto, encerrando-se com a ligação de uma nova molécula de ATP à cabeça de miosina, que se solta da actina e retorna ao estado relaxado.

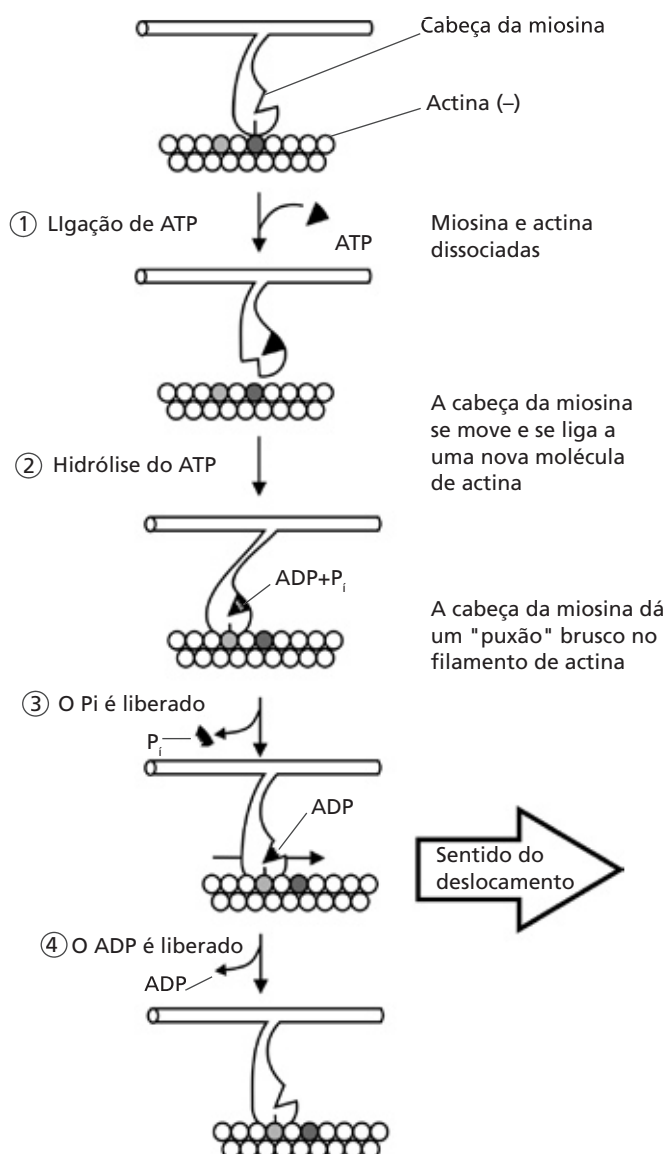


Figura 11.12: Etapas da contração muscular. Repare que, para cada ATP hidrolisado, o filamento de actina "caminha" no sentido do centro do sarcômero. Inicialmente, a cabeça da miosina estava ligada à subunidade preta da actina. Ao fim do ciclo de contração, o filamento havia caminhado e a mesma miosina estava presa à subunidade cinza. Embora ambos se localizem na cabeça globular, o sítio catalítico para hidrólise de ATP é um, e o sítio de ligação actina-miosina, outro.

Não corra!

Invista mais um tempinho na análise do mecanismo de interação actina-miosina. Observe que na **Figura 11.12** só aparece uma das cabeças de miosina, e nós sabemos que a miosina do tipo II possui duas cabeças. Se você concluiu que enquanto uma cabeça está presa ao filamento de actina a outra está ligada a um ATP, portanto, solta, concluiu certo; assim, contração do músculo é progressiva; enquanto algumas miosinas estão soltas, outras

mantêm o músculo contraído. Isso permite não apenas manter o tônus muscular (aquela contração mínima, que só some quando a pessoa perde os sentidos) como possibilita variar o tempo e a intensidade da contração. Podemos fazer pouca força durante longos períodos (muitos abraços) ou exercer a contratura máxima por períodos relativamente curtos (como no *braço de ferro*).



CONTRAÇÃO VOLUNTÁRIA: COMO?

De que maneira é ordenado e regulado o processo de contração muscular de modo a gerar movimentos harmoniosos, como a marcha e a dança, ao invés de convulsões desordenadas?

Todos nós já vimos, ou pior, sentimos, os efeitos de uma descarga elétrica sobre nossa musculatura. Enquanto descargas de baixa intensidade provocam apenas um *formigamento* localizado, descargas mais fortes causam contrações violentas da musculatura (dentes cerrados, mãos crispadas) que podem até levar à morte, se o músculo cardíaco for atingido. Esses *tremeliques* resultam da súbita e intensa despolarização da membrana plasmática das células musculares, o **sarcolema**. Em estado de repouso, o sarcolema se mantém polarizado pela atividade da nossa velha conhecida: a **bomba de Na^+/K^+** . O estímulo voluntário para contração chega através da acetilcolina que é secretada na fenda sináptica e se liga

a seu receptor. O receptor da acetilcolina (veja a Aula 10) é um canal iônico um pouco diferente dos que conhecemos até agora, pois permite a passagem tanto de Na^+ quanto de K^+ . Devido ao gradiente formado pela bomba de Na^+/K^+ , quando o receptor de acetilcolina se abre, o citoplasma é invadido por Na^+ , enquanto o K^+ sai. Como a quantidade de Na^+ que entra é bem maior, a membrana se despolariza. Entretanto, o receptor da acetilcolina se localiza apenas na região da membrana plasmática da fibra muscular (o sarcolema) sobre a qual existe um terminal sináptico (**Figura 11.13**). A onda de despolarização se propaga para as demais regiões do sarcolema pela abertura de canais iônicos dependentes de voltagem (são estes que se abrem quando levamos o choque elétrico).

Figura 11.13: Microscopia eletrônica de varredura de botão sináptico em contato com a membrana de uma fibra muscular estriada. Os receptores de acetilcolina se restringem à região sob as terminações nervosas. Canais voltagem dependentes propagam o sinal ao restante da membrana, conduzindo-o até os túbulos T. (Foto: Márcia Attias)



Essa conversa toda nós já tivemos no passado: na Aula 11 de Biologia Celular I (coincidência, não?). Volte à **Figura 11.5** de Biologia Celular I para conferir. Essa dinâmica com efeito *dominó* de abertura e fechamento de canais iônicos ao longo do sarcolema prossegue até atingir os túbulos T, de que falamos ainda no início desta aula. Até este momento, o estímulo elétrico está apenas percorrendo a membrana, mas a contração muscular, sabemos, ocorre entre filamentos de actina e miosina do citoplasma. Como é feita a passagem desse sinal para o citoplasma?

Acertou quem apostou nas tríades, formadas pelos túbulos T e pelo retículo endoplasmático liso (ou retículo sarcoplasmático). A membrana do túbulo T possui, além dos canais iônicos voltagem dependentes, uma outra proteína que também muda de conformação quando a membrana se despolariza. Esta proteína se chama **DHPR** (do inglês *dihydropyridin receptor*, receptor de di-hidropiridina). Essa proteína está associada, pelo lado citoplasmático, a um **canal de cálcio**, também chamado **receptor de rianodina** (antes que você pense em perguntar ao tutor: a rianodina é um alcalóide de origem vegetal). Assim, quando a onda de despolarização atinge o túbulo T, a DHPR abre um canal de cálcio na membrana do retículo sarcoplasmático (**Figura 11.14**).

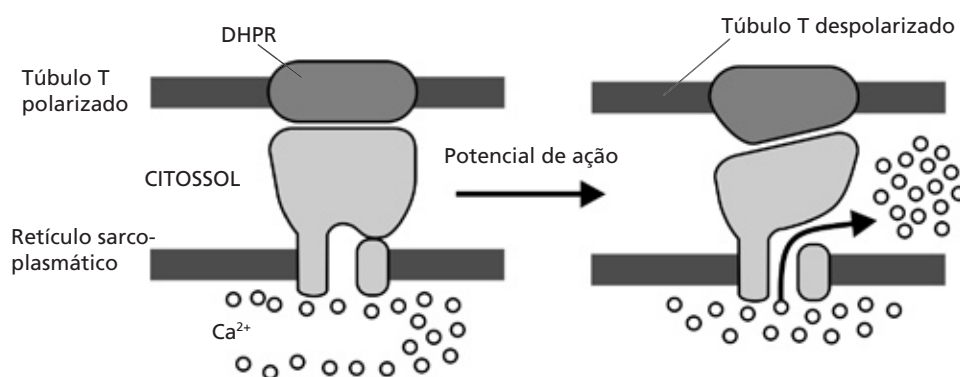


Figura 11.14: Os túbulos T possuem uma proteína voltagem dependente que fica em contato com o canal de Ca^{2+} da membrana do retículo sarcoplasmático, podendo abri-lo.

E O QUE O CÁLCIO TEM A VER COM A CONTRAÇÃO MUSCULAR?

Muita coisa! Veja que já havíamos comentado que o retículo sarcoplasmático é muito desenvolvido e organizado nessas células. Junte essa informação com a da Aula 16 de Biologia Celular I: uma das principais funções do retículo endoplasmático liso é regular a concentração intracelular de cálcio. Isto é feito por uma Ca^{2+} -ATPase presente na membrana do retículo que bombeia ativamente, isto é, com gasto energético, Ca^{2+} do citossol para a luz desse compartimento.

Ora, a onda de despolarização chega ao túbulo T e abre um canal de cálcio da membrana do retículo, que inundará (ainda que por pouco tempo) o citossol de íons Ca^{++} . Nesse breve intervalo, o Ca^{2+} irá interagir com uma das proteínas regulatórias de que já falamos no primeiro box: a **troponina**.

TROPONINA E TROPOMIOSINA, DUAS PROTEÍNAS PARA NÃO ESQUECER

Comentamos no início desta aula que iríamos nos deter em aspectos da contração do músculo estriado esquelético, aquele cuja contração depende de nossa vontade. Depende como, pois se havendo ATP a miosina estará constantemente realizando sua hidrólise e puxando os filamentos de actina aos quais se ligar? Como existem muitas mitocôndrias em torno das miofibrilas, o suprimento de ATP, a princípio, não será um problema (veja o box).

Justifica-se, portanto, o enunciado desta seção: a **tropomiosina** e a **troponina** são as duas proteínas regulatórias da contração muscular. Como elas funcionam?

A tropomiosina é uma proteína em forma de bastão que se dispõe sobre o filamento de actina. Além de contribuir para manter o filamento de actina esticadinho, a tropomiosina encobre o sítio de ligação para miosina na molécula de actina (**Figura 11.15**). Funciona assim como um verdadeiro *cinto de castidade*, impedindo que a miosina se aproxime da actina. Já a troponina é um complexo protéico menor, com uma região em bastão, que se liga à tropomiosina, e uma região globular, capaz de ligar íons Ca^{++} , se eles estiverem presentes no citossol.

Você já deve ter concluído que, se a tropomiosina é o cinto de castidade, a troponina é a *fechadura* deste cinto e o Ca^{++} é a *chave* capaz de abri-lo. Assim, quando a onda de despolarização chega aos túbulos T, a DHPR induz a abertura do canal de Ca^{++} sensível à rianodina e a onda de Ca^{++} citossólico se liga rapidamente à troponina, mudando sua conformação e obrigando a tropomiosina a se afastar. Finalmente, actina e miosina podem se ligar e dar prosseguimento à interação descrita na **Figura 11.12**.

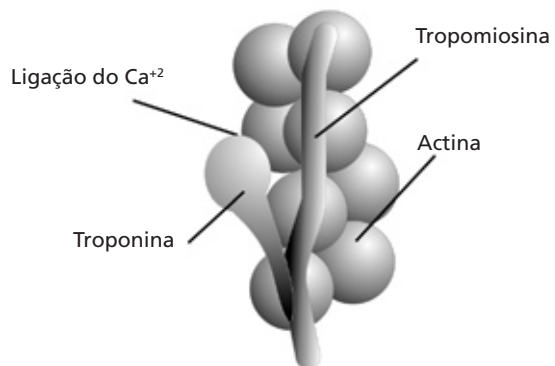


Figura 11.15: A molécula de tropomiosina encobre o sítio de ligação para miosina na molécula de actina. Esse sítio só fica exposto quando a troponina se liga ao Ca^{++} .

AGORA, TODO MUNDO JUNTO!

Cada vez que você pisca o olho, ou dá um beijo, ou masca chiclete, suas fibras musculares esqueléticas seguem uma mesma sequência de eventos, que está resumida na **Figura 11.16**.

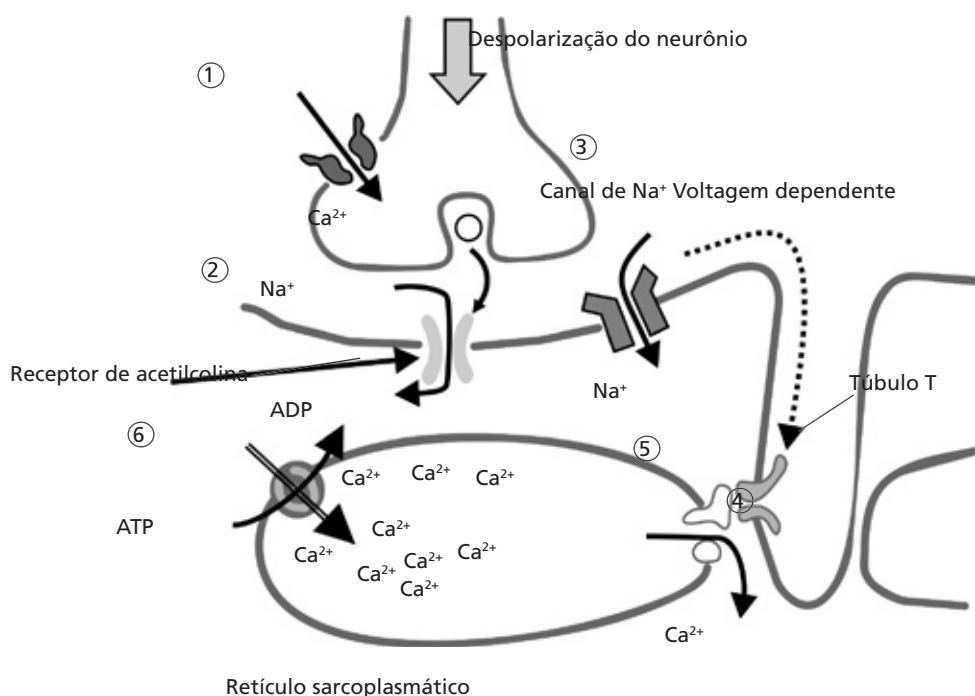


Figura 11.16: A chegada da onda de despolarização ao terminal sináptico leva à abertura de canais de Ca^{2+} voltagem dependentes (1). A entrada de cálcio no terminal sináptico desencadeia a exocitose do neurotransmissor acetilcolina, que se liga a seu receptor (2), um canal voltagem dependente que inicia a despolarização da membrana da fibra muscular. A despolarização do sarcolema prossegue pela abertura sucessiva de canais de Na^{+} voltagem dependentes (3). Ao atingindo os túbulos T, a onda de despolarização faz com que a proteína DHPR (4) provoque a abertura dos canais de Ca^{2+} presentes na membrana do retículo sarcoplasmático (5). Quando o potencial de membrana for restabelecido, a Ca^{2+} ATPase da membrana do retículo sarcoplasmático bombeará o Ca^{2+} de volta para a luz do retículo (6).

A partir da ligação da acetilcolina a seu receptor (que é um canal iônico), o que se observa é o *efeito dominó*, no qual a abertura deste canal gera um potencial de ação que provoca a mudança de conformação das proteínas daquela região da membrana. Na medida em que a onda de despolarização avança, mais canais vão sendo abertos até atingir o túbulo T, onde a DHPR provoca a abertura do canal de cálcio do retículo sarcoplasmático. Uma vez descarregado no citossol, este cálcio se liga à troponina, que afasta a tropomiosina e permite que a miosina se ligue e puxe a actina. *Simples*, né? Pense nisso na próxima piscada!

DIFERENTES MOMENTOS, DIFERENTES FORMAS DE OBTER ATP

Você reparou, na **Figura 11.12**, que quando a miosina está desligada da actina ela tem um ATP ligado? Portanto, o músculo relaxado tem ATP ligado. Para a miosina voltar a se ligar, é necessário que ela hidrolise o ATP. A contração muscular é um dos eventos fisiológicos que mais consome ATP. No entanto, a quantidade de ATP estocada num músculo, mesmo de um atleta treinado, é suficiente apenas para alguns segundos (3 a 5s!) de exercício intenso. Para mais do que isso é necessário sintetizar ATP. Não dá nem para uma corrida de 50m! O metabolismo da fibra muscular desenvolveu recursos especiais para reconstituir rapidamente o ATP necessário à contração. São basicamente três sistemas, com eficiência (tempo que leva para reconstituir o ATP versus tempo que ele dura) variável:

a) **sistema fosfogênico**: funciona com uma outra molécula capaz de ligar um grupamento fosfato como reserva, a creatina-fosfato ou **fosfocreatina**. A ligação do fosfato à creatina é altamente energética, mais do que a ligação ADP-fosfato (10,3kcal na primeira e 7,3kcal no segundo). A creatina-fosfato consegue transferir o fosfato diretamente para ADP, formando ATP, em fração de segundo. Nosso atleta já teria ATP para mais alguns segundos (8 a 10s); já dá para uns 100m rasos, ou para fugir do perigo...

b) **sistema glicogênio – ácido lático**: o músculo pode obter bastante ATP em pouco tempo, mobilizando os estoques de glicogênio, quebrando-o em glicoses e hidrolizando-as até piruvato (veja a Aula 27 de Biologia Celular I). Com pouco oxigênio presente, o excesso de piruvato produzido é transformado em **ácido lático** (Aula 11 de Bioquímica II), para que



a quebra de glicose possa prosseguir, produzindo mais ATP (se o piruvato fosse acumulado, a via glicolítica logo pararia). Com esse suprimento de ATP, que dura 1,5 a 2min, nosso atleta já poderia correr 400m. Claro que a quantidade de glicogênio acumulada na fibra muscular é o fator limitante. Daí ser necessário que o atleta mantenha uma dieta rica em carboidratos. A reposição total do estoque de glicogênio muscular leva cerca de dois dias, por isso esse é o intervalo mínimo entre os eventos de exercício anaeróbico intenso.

c) **sistema aeróbico:** é o que você já aprendeu: na presença de oxigênio suficiente, o piruvato entra na mitocôndria e vai produzir (via ciclo de Krebs e cadeia respiratória) uma quantidade de ATP muito maior. Além disso, o glicogênio não é o único substrato usado, mas também os ácidos graxos e até mesmo os aminoácidos, se necessário (Aula 17 de Bioquímica II). Nosso atleta já poderia até mesmo correr uma maratona (42.200m)! Nesse sistema, o fator limitante é a quantidade de oxigênio disponível, que depende, evidentemente, da irrigação sanguínea. Mas o metabolismo muscular também se especializou na distribuição de oxigênio: no citoplasma dos músculos podemos encontrar a **mioglobina**, uma proteína semelhante à hemoglobina, capaz de ligar oxigênio e tornar sua distribuição melhor e mais rápida do que seria por difusão simples.



Entretanto, é preciso ressaltar que o sistema mitocondrial leva quatro vezes mais tempo do que o sistema da fosfocreatina para produzir a mesma quantidade de ATP! Assim, certamente são os sistemas da fosfocreatina e do ácido lático que nos livram de um perigo iminente (apoiados pela sinalização de adrenalina, relembre na Aula 13 de Biologia Celular I).

Outro fato importante que precisa ser mencionado é que o exercício intenso na ausência de oxigênio produz quantidades de ácido lático e H^+ capazes de acidificar o citoplasma da fibra muscular, causando a dor e o grande cansaço que caracterizam a **fadiga muscular**. O ácido lático logo se espalha pelo citoplasma e pelos fluidos corporais. Quando o oxigênio volta a ficar disponível em grande quantidade, parte do ácido lático volta a formar piruvato, que é usado para produzir ATP na maioria dos tecidos corporais, e parte é convertida a glicose no fígado, o que ajuda a repor os estoques de glicogênio muscular.

O QUE PODE DAR ERRADO?

Apesar de muito bem bolado, o sistema de contração muscular está sujeito a algumas falhas. Podem ser o resultado de mutações (doenças hereditárias), de doenças auto-imunes e de intoxicações (venenos).

- **Miastenia gravis:** trata-se de uma doença auto-imune na qual o indivíduo produz anticorpos que destroem os receptores para acetilcolina na membrana das células musculares. Gradualmente, a pessoa vai perdendo a força, e quando a capacidade de contrair o diafragma fica comprometida, sobrevém a morte por asfixia.

- **Rigor mortis:** também conhecido como rigidez cadavérica, é devido à falta de ATP para que a musculatura volte ao estado relaxado. É um fator importante para que os legistas possam determinar a hora provável da morte.



- **Tétano:** é causado por uma bactéria, *Clostridium tetanus*. A neurotoxina tetânica bloqueia a liberação de neurotransmissores inibitórios, isto é, aqueles capazes de inibir a excitação da acetilcolina, levando a uma paralisia espasmódica (o músculo fica paralisado no estado contraído).

- **Distrofia muscular Duchenne:** é uma doença hereditária ligada ao cromossomo X, na qual a proteína **distrofina**, que forma pontes entre a actina e o sarcolema, não é corretamente sintetizada. Isso resulta em fibras musculares mais frágeis, que, com o uso, vão sendo lesadas progressivamente, conduzindo à perda da atividade motora.

Curare, Botox e estricnina

Dardos envenenados com o extrato de curare, um cipó amazônico, têm sido usados pelos índios brasileiros desde antes da chegada de Cabral. O alcalóide extraído dessa planta liga-se ao receptor de acetilcolina na membrana dos músculos estriados. Dessa forma, a acetilcolina não consegue abrir esses canais iônicos, impedindo a contração muscular. Ao contrário da toxina tetânica, a musculatura é paralisada no estado relaxado. Isso levou ao uso do curare e de seus sucedâneos sintéticos em processos anestésicos. A ingestão do curare por via oral não é perigosa, de modo que os índios flechavam a presa que, ferida e parcialmente paralisada era capturada com facilidade.

Uma outra molécula, a succinilcolina, também se liga aos receptores de acetilcolina, mas provocando sua abertura. Por não ser degradada pela acetilcolinesterase, a succinilcolina mantém os canais iônicos abertos por longo período, levando à paralisia muscular no estado de contração.

Curiosamente, tanto o curare quanto a estricnina (principal componente do chumbinho, um perigoso raticida) são extraídos de plantas do mesmo gênero: *Strychnos toxifera* e *Strychnos nux vomica*, respectivamente. Entretanto, a estricnina compete com neurotransmissores do sistema nervoso central.

Visto isso, por que não usar o curare no lugar do botox, já que ambos deixam o músculo no estado relaxado? A resposta está no fato de que o efeito do curare dura relativamente pouco, enquanto o organismo leva vários meses para eliminar a toxina botulínica.



CONCLUSÃO

Vimos na aula de hoje como é a organização estrutural da célula muscular e como ela se presta à sua função contrátil específica. Surpreendentemente (ou não), a musculatura voluntária dos invertebrados (caranguejos, gafanhotos, minhocas etc.) é muito semelhante à dos vertebrados e muitos dos estudos sobre a contração muscular voluntária foram, e continuam a ser, feitos nesses animais. Se considerarmos que o sucesso evolutivo (= sobrevivência) de um animal depende, em grande parte, de sua capacidade de correr atrás de suas presas e escapar das espécies predadoras, isso é muito justificável, não acham?

Navegar é preciso...

Vários *sites* tratam desse assunto. Seleccionamos alguns para você visitar. Apesar da maioria dos textos estar em inglês, as imagens são auto-explicativas e várias animações e filmes estão disponíveis.

cs.southwesternadventist.edu/.../sk_muscle/ - a interação actina-miosina. O papel do cálcio, do ATP e a participação da troponina e da tropomiosina no processo regulador.

Para uma bela combinação de microscopia eletrônica e animação. Vá ao *site* <http://www.bio.davidson.edu/misc/movies/musclcp.mov>

RESUMO

- As células musculares são especializadas em contrair-se, graças ao deslizamento de filamentos de actina sobre feixes de miosina.
- Existem três tipos de célula muscular: lisa, estriada cardíaca e estriada esquelética. As duas primeiras são de contração involuntária, controlada pelo Sistema Nervoso Autônomo. Apenas os músculos esqueléticos possuem contração voluntária.
- As células musculares têm origem em mioblastos que se fundem e formam fibras longas e multinucleadas. O crescimento das fibras é feito pela fusão de mioblastos a fibras preexistentes.
- A maior parte do citoplasma da fibra muscular é ocupado pelas miofibrilas. Ao redor das miofibrilas distribuem-se mitocôndrias e cisternas do retículo endoplasmático liso, que se associam aos túbulos T da membrana plasmática, constituindo as tríades. Núcleos e demais organelas se situam na periferia da fibra.
- A unidade de contração é o sarcômero, que compreende o espaço entre dois discos Z: duas hemibandas claras e uma banda escura.
- Nas bandas claras predominam os filamentos de actina, as bandas escuras são constituídas por feixes de miosina do tipo II e filamentos de actina que interpenetram esses feixes. O disco Z é constituído por alfa-actinina e cap Z.
- A despolarização resulta da abertura de canais iônicos dependentes do neurotransmissor acetilcolina (receptores de acetilcolina) e subsequente abertura de canais iônicos voltagem dependentes ao longo da membrana, até atingir os túbulos T.
- O cálcio, que se acumula no retículo sarcoplasmático pela ação de uma Cálcio ATPase, é liberado no citossol quando a despolarização da membrana chega aos túbulos T, mudando a conformação da proteína DHPR. A DHPR provoca a abertura de canais de cálcio na membrana do retículo sarcoplasmático.
- No citossol, o cálcio se liga à troponina, que, por sua vez, “empurra” a tropomiosina, liberando o sítio de ligação para miosina no filamento de actina.
- Durante a contração do sarcômero, cada cabeça de miosina hidrolisa uma molécula de ATP, liga-se ao filamento de actina e, ao liberar o Pi, o filamento de actina é puxado, encurtando o sarcômero. O relaxamento ocorre quando uma nova molécula de ATP liga-se à miosina.

EXERCÍCIOS

1. Qual a origem das células musculares esqueléticas? Como crescem?
2. Quais são e quais as principais características dos outros tipos de músculo?
3. Defina:
 - a) sarcômero
 - b) sarcolema
 - c) retículo sarcoplasmático
 - d) túbulo T- ou túbulo transverso
 - e) tríade
4. Qual a função das seguintes proteínas acessórias:
 - a) alfa-actinina
 - b) Cap Z
 - c) tropomodulina
 - d) troponina
 - e) tropomiosina
 - f) nebulina
 - g) titina
5. Por que nos referimos a filamentos de actina e a feixes de miosina?
6. Como, uma vez no estado contraído, o sarcômero volta ao estado relaxado?
7. Por que ocorre a rigidez cadavérica?

As células-tronco

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Definir o que são as células-tronco.
- Distinguir a origem e as características das células-tronco embrionárias e das células-tronco de adultos.
- Definir totipotência, pluripotência e multipotência.
- Descrever os processos de regeneração e renovação de células sanguíneas, musculares, epiteliais e nervosas.
- Discutir as aplicações terapêuticas potenciais da manipulação de células-tronco, apontando suas limitações éticas e científicas.

Pré-requisito

Aula 4 de Biologia Celular I
Aulas 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11
de Biologia Celular II

INTRODUÇÃO

A aula de hoje é repleta de perguntas, muitas ainda sem resposta. Esperamos que ela seja instigante e aguce sua curiosidade e seu interesse pela Biologia Celular. Poucos assuntos têm gerado tanta polêmica nos dias de hoje quanto a descoberta das células-tronco. Sua potencial utilização na cura de lesões decorrentes de acidentes e enfermidades como câncer e mal de Alzheimer abre um fascinante leque de possibilidades. Por outro lado, aspectos éticos envolvendo a manipulação de embriões, a clonagem e outras questões delicadas também precisam ser bem analisados. Mas, afinal, o que são células-tronco? Há apenas um tipo de célula-tronco? Como podem ser obtidas? Qual seu papel natural? Como seu potencial pode ser aproveitado para melhorar nossa vida? Antes de tomar partido, seja pró ou contra, conheça um pouco sobre este assunto.

Por que as células-tronco receberam este nome?

Em inglês elas são chamadas *stem cells*, e sua tradução literal para o português seria **células estaminais** (como de fato são chamadas em Portugal). Segundo o *Dicionário Aurélio*, significa o eixo principal de uma planta, de onde partem as ramificações, e também o *fio da vida*, como no caso de uma árvore genealógica em cujo tronco estão os ancestrais, e, nos ramos, as sucessivas gerações. Por seu papel iniciador de toda a proliferação e diferenciação celular, ambas as nomenclaturas são adequadas.

O QUE SÃO CÉLULAS-TRONCO?

As células-tronco são células não especializadas capazes de renovar-se continuamente. Quando uma célula-tronco se divide, as células-filhas tanto podem continuar sendo células-tronco quanto ingressar numa via de proliferação (novas divisões) e progressiva diferenciação, dando origem aos diversos tipos celulares que compõem o indivíduo (células cardíacas, pancreáticas, sangüíneas, neurônios etc.). Essa diferenciação passa por tipos celulares intermediários, também capazes de se multiplicar. Os tipos intermediários darão origem a um ou mais tipos celulares específicos (**Figura 12.1**).

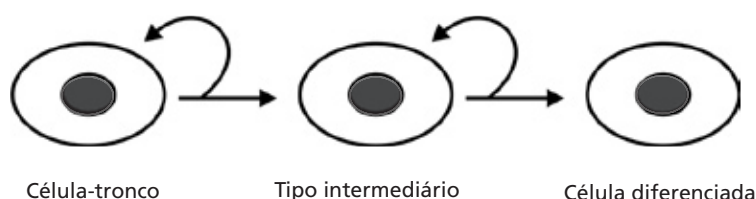


Figura 12.1: Ao se dividir, uma célula-tronco tanto pode dar origem a outra célula-tronco quanto a tipos celulares mais diferenciados, mas também capazes de proliferar, tanto gerando células ainda pouco diferenciadas quanto células que resultarão num tipo específico. A célula totalmente diferenciada não mais se divide.

A partir dessa definição, a primeira conclusão a que se pode chegar é a de que o zigoto é uma célula-tronco. De fato, a partir do zigoto, têm origem todos os tipos celulares, mais ou menos diferenciados, que formam um organismo. Resta perguntar: em que ponto do desenvolvimento o zigoto ou as células dele resultantes deixam, ou não, de ser células-tronco? Qual o potencial de auto-replicação e de diferenciação de nossas células?

TOTIPOTÊNCIA E PLURIPOTÊNCIA: AS CÉLULAS-TRONCO SÃO ONIPOTENTES?

Por ser capaz de se diferenciar em qualquer outro tipo celular, o zigoto é chamado célula **totipotente**. Nos organismos já desenvolvidos, alguns tipos celulares conservam a capacidade de dividir-se e diferenciar-se, provendo a substituição de células cujo tempo de vida é curto, como as do sangue. Os tipos celulares que conservam a capacidade de diferenciar-se numa determinada gama de células são chamados **pluripotentes**. Já algumas células conservam a capacidade de se multiplicar, mas se diferenciam em apenas um tipo celular, como é o caso dos mioblastos, que permanecem como células-satélite em torno das fibras musculares (veja Aula 11). Estas células são chamadas **unipotentes**. Para entender melhor esses conceitos, vamos acompanhar as primeiras etapas do desenvolvimento de um embrião de camundongo, muito semelhantes ao que ocorre com todos os mamíferos, inclusive nós.

ZIGOTOS: TOTIPOTENTES OU PLURIPOTENTES?

Nos dias que se seguem à fertilização, o zigoto se divide até que, por volta do terceiro dia, consiste numa massa de 16 células (**Figura 12.2**). Inicia-se aí o processo de **compactação**, estabelecendo junções do tipo *tight* entre as células. Antes de atingir o estágio de compactação, as células podem ser separadas sem muita dificuldade. Se isso acontecer, espontânea ou artificialmente, dois organismos idênticos, porém independentes, se desenvolverão. Assim têm origem os gêmeos idênticos. Portanto, até atingir o estágio de mórula, as células do embrião são, de fato, totipotentes.

As junções *tight* (de oclusão) isolam as células no interior da mórula, e outra fase se inicia. Com quatro dias de vida, uma cavidade se desenvolve no interior da mórula, convertendo-a num **blastocisto**. O blastocisto é uma esfera oca na qual uma camada de células forma a parede e é chamada *trofoectoderma*. Essas células darão origem à placenta, enquanto a massa de células em seu interior dará origem ao embrião propriamente dito e outros anexos embrionários, como o saco vitelino. Por não serem capazes de dar origem à placenta, as células do blastocisto são consideradas, por parte dos pesquisadores, como “apenas” pluripotentes; entretanto, elas possuem potencialidade para dar origem a todas as células que compõem o animal, inclusive os gametas.

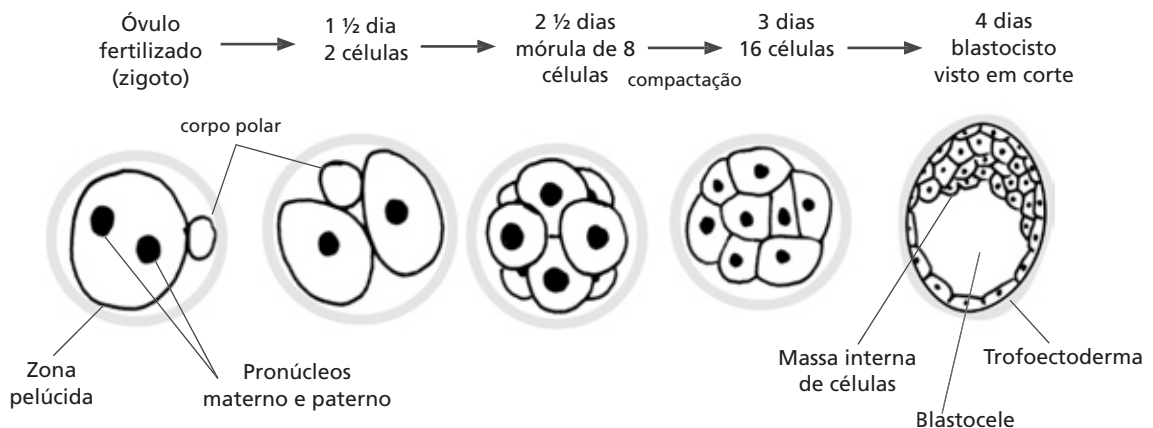


Figura 12.2: Primeiras etapas do desenvolvimento de um zigoto de camundongo. Até o estágio de mórula, todas as células são totipotentes, mas a partir da formação do blastocisto já existem dois tipos celulares distintos. A zona pelúcida é uma camada protetora que envolve o ovo fecundado, desempenhando papel análogo ao da matriz extracelular.

Bem, como você pode perceber, essa questão de pluripotência ou totipotência é sutil, e não chega a ter grande importância no contexto da nossa disciplina. O fato é que as culturas formadas por células retiradas da massa interna do blastocisto conservam a capacidade de proliferar indefinidamente e manter seu potencial de diferenciar-se, ou não, em qualquer um dos tipos celulares que compõem um indivíduo. Essas características definem as **células-tronco embrionárias**.

CÉLULAS-TRONCO EMBRIONÁRIAS

Quando células da massa interna de um blastocisto são implantadas sob a pele de um camundongo *nude* (veja o box), desenvolve-se uma massa tumoral chamada *teratoma*. Nesse tumor coexistem células que permanecem indiferenciadas e células diferenciadas dos mais diversos tipos (glandulares, epiteliais, ósseas, musculares etc.), embora sem nenhuma organização funcional.

Os camundongos *nude* receberam este nome por não apresentarem pêlos. Entretanto, mais surpreendente do que isso é o fato de nascerem sem a glândula timo. Esta característica é determinada por um gene recessivo, denominado *nu*. Por não possuir timo, estes camundongos são incapazes de constituir linfócitos T, essenciais para muitas respostas imunológicas. Como são incapazes de reconhecer e rejeitar enxertos de células derivadas de outros organismos, são muito utilizados no estudo de tumores em geral.



O QUE É LIF?

Além de aminoácidos, glicídios e lipídeos, as células dependem de vários peptídeos sinalizadores do meio extracelular para permanecerem saudáveis – são os fatores, de crescimento, de diferenciação e outros. Várias dessas moléculas já são conhecidas, e sua importância para a célula já está determinada. O LIF (fator inibidor da leucemia), mencionado no texto, é uma dessas moléculas. Caso ele deixe de ser produzido, por algum motivo, o indivíduo desenvolverá leucemia, o que mostra que, para que nossas células se mantenham saudáveis, é preciso que elas sejam constantemente guiadas em seu comportamento por esses sinais externos. A ação conjunta e coordenada do LIF e dos demais fatores garante a manutenção e renovação saudável dos diversos tipos celulares que compõem um organismo.

Esse experimento comprovou que a proliferação de células embrionárias e sua diferenciação no que se tornará um organismo são um fenômeno complexo. Em contrapartida, células da massa central do blastocisto dissociadas podem ser mantidas em cultura, proliferando-se sem se diferenciar, desde que seja adicionado ao meio de cultivo **LIF**, ou fator inibidor de leucemia (veja observação na lateral). Na ausência desse fator, essas células se agregam espontaneamente, dando origem a massas semelhantes aos teratomas que se desenvolvem nos camundongos *nude*.

Durante o desenvolvimento, a intercomunicação celular resulta na geração e transmissão de sinais específicos de cada célula com suas vizinhas, determinando o comportamento subsequente destas (Aula 13 de Biologia Celular I). Dentre os milhares de sinais que a célula pode receber do meio ambiente, quais são aqueles que encaminham as células-tronco embrionárias a seguir uma determinada via de diferenciação? Já existem estudos mostrando serem necessários vários fatores de diferenciação atuando no tempo e na sequência corretas para que determinado tipo celular se diferencie a partir de células pluripotentes. Só para você ter idéia da complexidade do sistema, mais de 2.000 fatores de crescimento já foram identificados. Apesar da enorme complexidade desse processo, já é possível, em laboratório, induzir a diferenciação de uma cultura de células-tronco embrionárias em certos tipos celulares. Questões éticas relacionadas à utilização de embriões impedem que essas técnicas de terapia celular sejam aplicadas na cura, por exemplo, de diabetes do tipo I. A idéia de reparar corações enfartados, articulações atacadas pela artrose e pâncreas inutilizados pela diabetes (**Figura 12.3**) com células-tronco começou a ser uma realidade a partir de uma outra descoberta: células indiferenciadas persistem no indivíduo após o nascimento e o acompanham durante toda a vida adulta.

Blastocisto em cultura

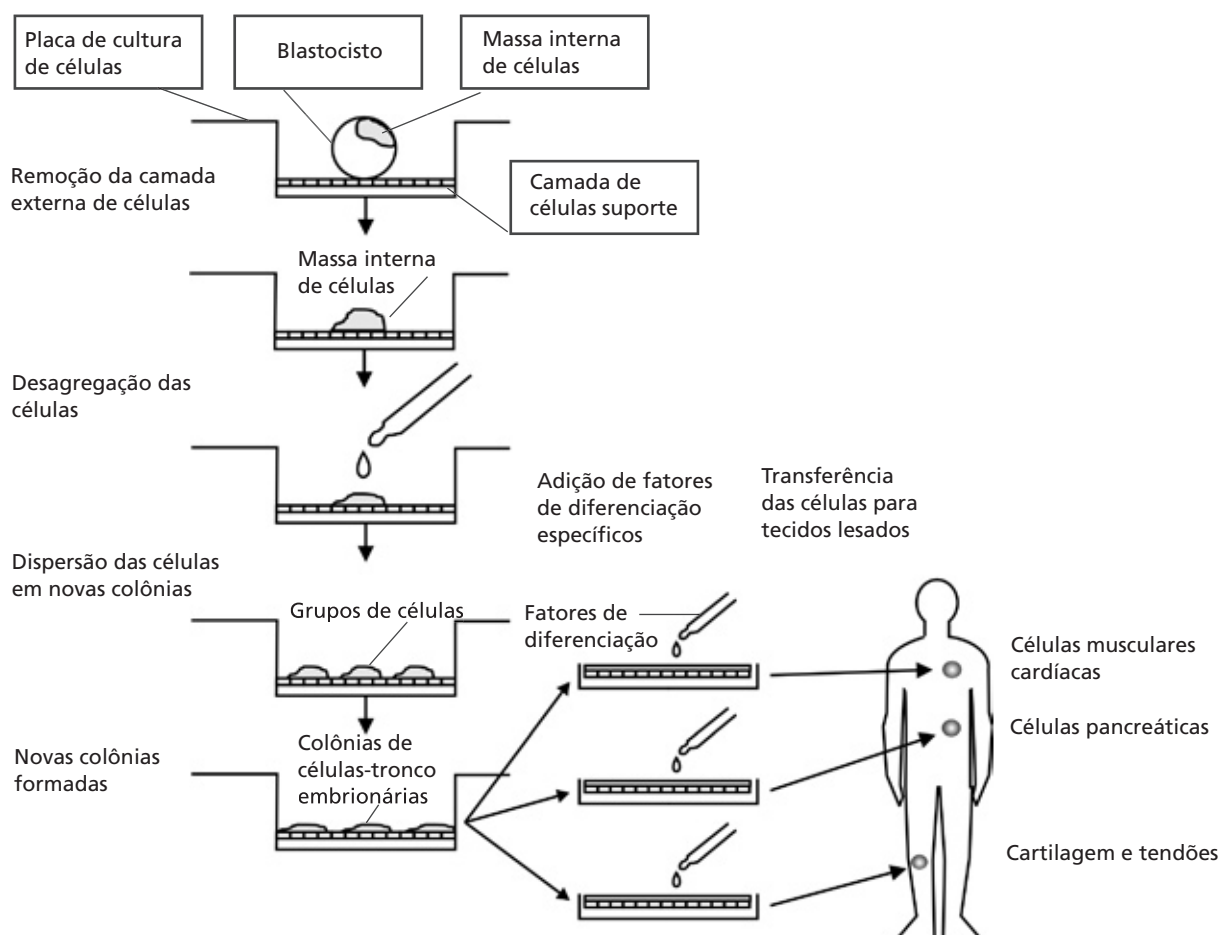


Figura 12.3: Resumo das etapas do cultivo de células-tronco embrionárias. Embora a metodologia de obtenção e manutenção de clones de células-tronco já esteja dominada, a indução de diferenciação e real transferência dessas células para pessoas ainda está em fase experimental. Em princípio, a adição de fatores de diferenciação específicos levará à diferenciação das colônias de células-tronco embrionárias em virtualmente qualquer tipo celular (adaptado de *Scientific American*, 1999. Roger Pedersen).

É impossível falar em manipulação de embriões, transplante de células e zigotos sem que venham à lembrança as experiências com a clonagem de animais, como a ovelha Dolly (veja o box). Muito se tem aprendido sobre o comportamento de células-tronco embrionárias e do adulto com esse tipo de procedimento em animais.

Dolly. Por que essa ovelha ficou tão famosa?

Em 1997 nasceu a ovelha Dolly. Ela ficou mundialmente conhecida por ter sido o primeiro mamífero clonado. Como assim? O código genético (DNA nuclear) de Dolly era idêntico ao das células somáticas de outra ovelha. O processo consistiu em retirar o núcleo de uma célula da glândula mamária de uma ovelha e inseri-lo num óvulo cujo núcleo havia sido previamente removido. Após a passagem de uma corrente elétrica, o núcleo daquela célula mamária passou a se comportar como se fosse o núcleo de um zigoto, dividindo-se e dando origem, sucessivamente, à mórula e ao blastocisto. Esse embrião foi implantado no útero de uma ovelha “de aluguel” e de seu desenvolvimento nasceu Dolly (Figura 12.4).

Dolly foi o primeiro sucesso. Antes dela, centenas de tentativas de clonagem fracassaram. A cada fracasso, os pesquisadores aprendiam um pouco mais. Por exemplo, apenas células que estivessem na fase **QUIESCENTE** do ciclo celular podiam ser utilizadas na clonagem. Para isso, as células retiradas da ovelha foram cultivadas com uma quantidade de nutrientes que impedia sua entrada em G1 (reveja a Aula 1 de Biologia Celular II).

Apesar do sucesso do experimento, Dolly viveu apenas 6 anos. Foi sacrificada por haver começado a desenvolver várias doenças degenerativas (artrose, por exemplo), típicas de ovelhas velhas. O que aconteceu com Dolly, e que talvez tenha representado a maior lição aprendida com a sua criação, é que a célula cujo núcleo foi utilizado para gerá-la já havia se dividido diversas vezes durante a vida da ovelha-mãe (doadora do núcleo). Ocorre que, após cada divisão celular, os **TELÔMEROS** dos cromossomos ficam um pouco mais curtos, o que, acredita-se, seja um sinal do envelhecimento celular. Assim, Dolly geneticamente **tinha a idade de sua mãe mais sua própria idade**.

QUIESCENTE

Equivale ao período G_0 , quando a célula sai da sequência G_1 -S- G_2 -M.

TELÔMERO

Extremidade do cromossoma na qual o DNA possui uma sequência característica que é replicada de forma diferente.

Isso serviu de alerta para os pesquisadores, mostrando-lhes que, apesar da aparência jovem, o envelhecimento de um clone é precoce. Transposto para a manipulação de embriões, isso significa que realizar um experimento com embriões para regenerar células pancreáticas de um diabético, por exemplo, gerará células com a mesma idade biológica do indivíduo doador. Isso dá o que pensar, não dá?

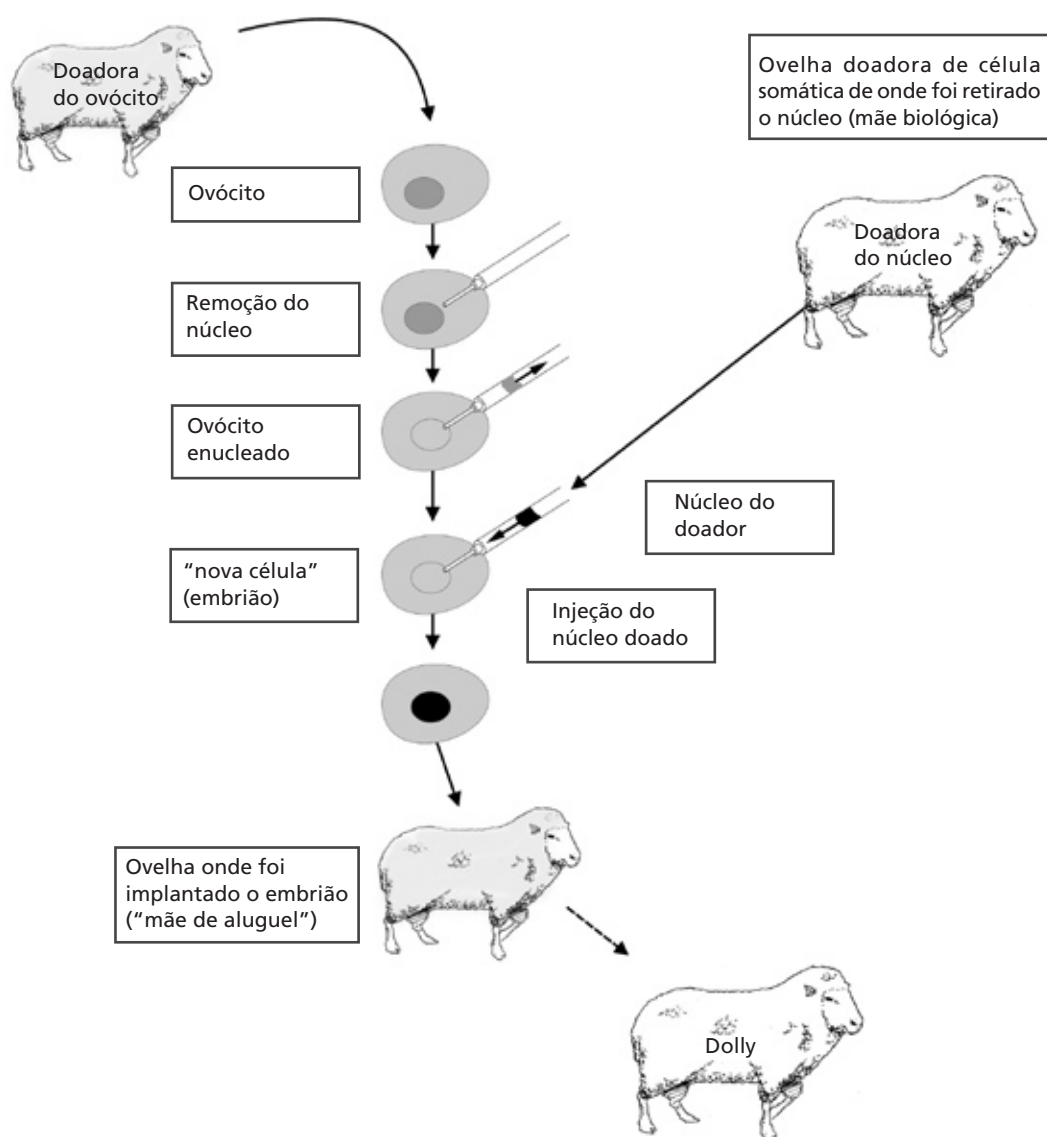


Figura 12.4: A ovelha Dolly foi produzida a partir de um processo de clonagem pioneiro.

EXISTEM CÉLULAS-TRONCO EM ORGANISMOS ADULTOS?

Apesar do grande potencial que as técnicas de clonagem associadas à manipulação de células-tronco embrionárias podem trazer, os entraves éticos para esse tipo de procedimento são do mesmo porte de sua complexidade científica. Afortunadamente, os blastocistos não são a única fonte de obtenção de células-tronco.

Após o nascimento, a diversidade celular já se encontra bastante definida. Mesmo assim, muitos tecidos se renovam continuamente. Essa renovação depende de populações de células-tronco que persistem no indivíduo adulto. Entretanto, as opções para diferenciação dessas **células-tronco do adulto (CTA)** são menores que nas células-tronco embrionárias. Seu comportamento em cultura também é diferente, sendo muito mais difícil manter as culturas por longos períodos, enquanto as culturas de células oriundas de blastocistos são mantidas por um ano ou mais.

Nos indivíduos adultos persistem células-tronco capazes de, sob estímulos específicos, entrar em divisão, gerando novas células-tronco ou células precursoras específicas, que prosseguirão se dividindo e se diferenciando. Esse processo é muito interessante, na medida em que a célula-tronco em si se divide pouco. Suas sucessoras é que se dividem com mais velocidade e se diferenciam com maior intensidade, **amplificando** a população celular sem comprometer a linhagem primordial (**Figura 12.5**). Entretanto, células muito diferenciadas não mais se dividem, como é o caso dos neurônios, das hemácias e dos linfócitos. Dessa maneira, entende-se por que populações relativamente pequenas de células-tronco são capazes de prover a renovação celular de tecidos como o sangue, a pele, os cabelos e o revestimento do intestino.

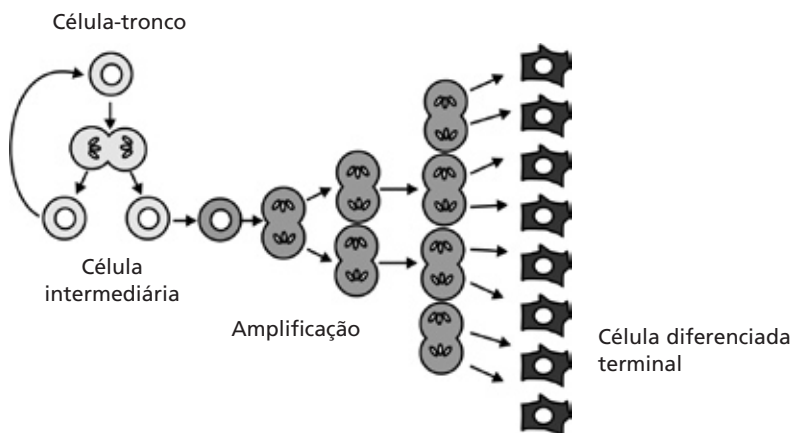


Figura 12.5: Quando uma célula-tronco se divide, uma das células-filhas fica “comprometida para diferenciação”, enquanto a outra é idêntica à célula-tronco primordial. A célula comprometida se dividirá várias vezes, gerando tipos intermediários cada vez mais especializados, até a formação de células totalmente diferenciadas, que não mais se dividirão.

AS CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

Uma das dificuldades de se estudar as células-tronco do adulto é que, além de não existirem grandes quantidades delas em cada tipo de tecido, elas também não possuem uma morfologia característica. Em alguns tecidos, como a pele e o epitélio que reveste o intestino, as células-tronco ocupam nichos específicos. Já no músculo estriado, os mioblastos-satélite se encontram dispersos entre as fibras musculares, às quais, sob determinados estímulos, fundem-se, promovendo seu crescimento. No caso das células da linhagem hematopoética, as células-tronco residem na medula óssea. A partir de um tipo precursor (as **células-tronco HEMATOPOIÉTICAS**, ou CTH) têm origem hemácias, leucócitos e plaquetas (Figura 12.6).

HEMATOPOIÉTICO

De *hemato*: sangue
+ *poese*: formação;
relativo à formação do
sangue.

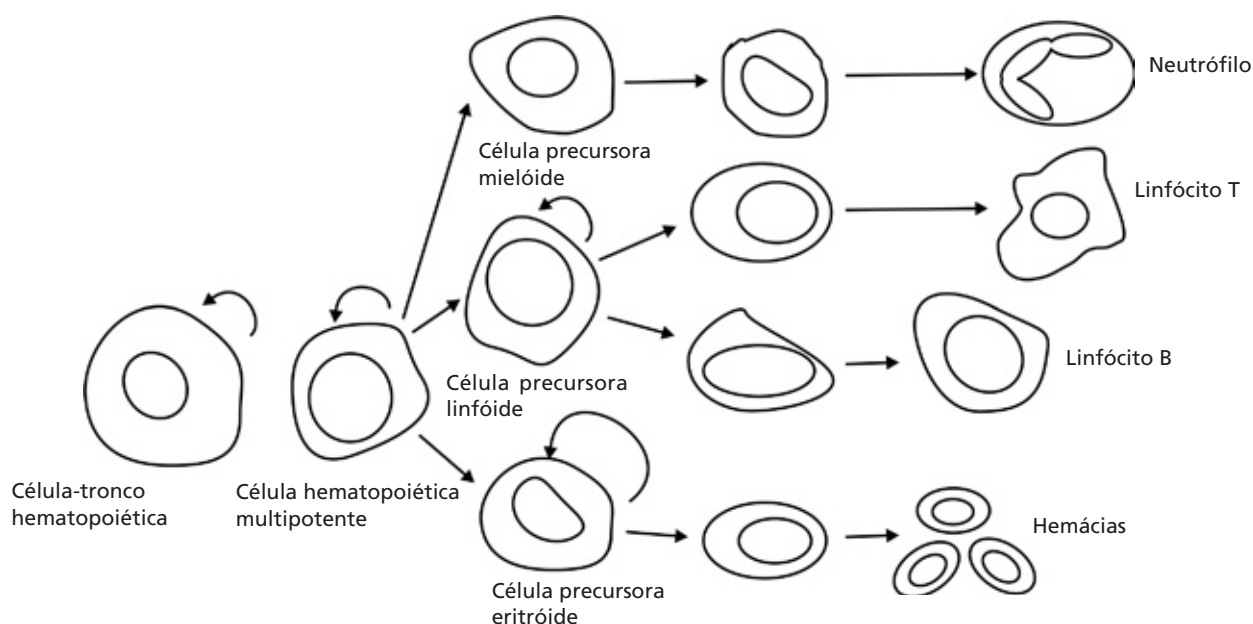


Figura 12.6: Ao se dividir, uma célula-tronco da linhagem hematopoética pode dar origem a células multipotentes que, de acordo com os estímulos recebidos, diferenciam-se em precursores de células mielóides, células linfóides ou hemácias. Cada um desses tipos celulares intermediários é capaz de se dividir, amplificando a progênie da célula-tronco que lhes deu origem; entretanto, linfócitos, neutrófilos e eritrócitos são células muito diferenciadas e não se dividem mais.

O QUE DETERMINA SE, AO SE DIVIDIR, UMA CÉLULA-TRONCO HEMATOPOIÉTICA DARÁ ORIGEM A OUTRA CÉLULA-TRONCO HEMATOPOIÉTICA OU ENTRARÁ EM ROTA DE DIFERENCIAÇÃO (CÉLULA PROGENITORA MULTIPOTENTE)?

Essa é uma questão complexa que começa a ser respondida. As células-tronco hematopoiéticas (CTH) expressam em sua superfície a proteína *notch*. Por sua vez, um outro tipo de célula-tronco que também reside na medula, as células-tronco estromais (CTE), possuem um receptor para *notch*. Quando há o reconhecimento (adesão) entre a proteína *notch* da CTH e o seu receptor em CTE, a primeira permanecerá como célula-tronco após a divisão. Na ausência desse reconhecimento, a célula entrará em rota de diferenciação ou então morrerá (Figura 12.7). A proteína *notch* não é o único fator envolvido na decisão sobre o futuro das CTH que se dividem. O sistema é bem mais complexo, envolvendo o mútuo reconhecimento de outras proteínas sinalizadoras.

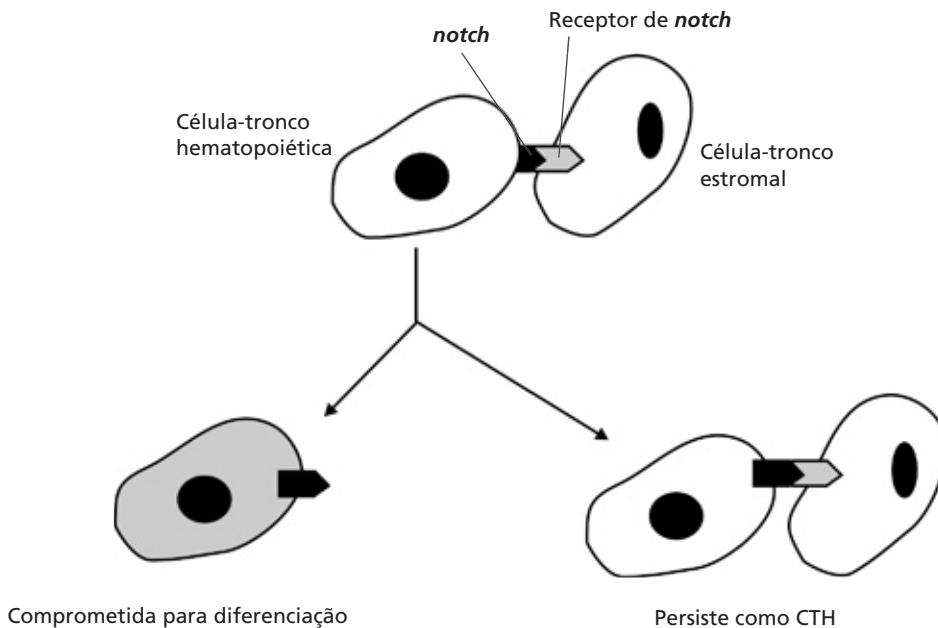


Figura 12.7: A sinalização resultante da interação com outras células resguarda a CTH no seu estado primitivo. As células-filhas não ligadas a uma CTE entram na rota de diferenciação em célula progenitora.

Uma vez estabelecido o comprometimento para a diferenciação, entram em ação outros fatores que induzem à formação de determinado tipo de célula do sangue. Uma redução dos níveis de oxigênio do sangue, por exemplo, leva os rins a secretar maiores quantidades do hormônio **eritropoietina** na circulação. A eritropoietina, por sua vez, aumenta a produção de eritrócitos a partir de células **progenitoras CFC-E** (células formadoras de colônias de eritrócitos). Essas células dão origem a eritrócitos maduros ao final de apenas seis ciclos de divisão. As próprias CFC-Es são derivadas de outras células precursoras e, na falta de eritropoietina, não apenas não se dividem como morrem rapidamente.

A existência de células hematopoiéticas precursoras é conhecida há bastante tempo, tanto que são utilizadas em transplantes de medula, principalmente para pacientes portadores de leucemias. A grande surpresa, esta bem mais recente, foi a descoberta desse segundo tipo de célula-tronco residente na medula, **as células-tronco estromais** ou **mesenquimais**, aquelas que possuem o receptor para *notch*.

UMA CÉLULA INICIAL, DIVERSAS POSSIBILIDADES DE DIFERENCIAÇÃO

Pois é, na medula óssea coexistem dois tipos de células-tronco:

- **hematopoiéticas (CTH)**, que dão origem a todos os tipos de células do sangue: eritrócitos, linfócitos de todos os tipos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monócitos, macrófagos e plaquetas;

- **estromais (CTE)**, capazes de originar células ósseas, musculares cardíacas, cartilaginosas, adipócitos e outros tipos de células do tecido conjuntivo e dos tendões. Grande volume das pesquisas sobre terapia celular com células-tronco adultas tem-se concentrado nesse tipo celular. Embora vários sucessos terapêuticos tenham sido alcançados, ainda existem muitas dúvidas quanto ao real efeito desse tratamento.

Não se sabe se a regeneração tissular observada é resultante da proliferação e diferenciação das células estromais injetadas no órgão doente (veja o box) ou se estas apenas sinalizam (estimulam) a proliferação e diferenciação de células que já existiam naquele local. Outra grande dúvida é quanto ao controle da diferenciação das células-tronco, pois se um mesmo tipo celular pode gerar tanto músculo quanto osso, como garantir que as células injetadas vão assumir o comportamento “correto”? Devido a essas incertezas, esses tratamentos só são aplicados a pacientes sem nenhuma outra possibilidade terapêutica.

O Brasil já utiliza células-tronco com fins terapêuticos

No ano 2001, foi realizado pela primeira vez no Brasil um procedimento em pacientes que haviam sofrido enfarto agudo do miocárdio: a injeção em seu coração de células-tronco *autólogas* (filtradas do sangue dos próprios pacientes). Dos 12 pacientes, todos na fila para um transplante, 10 sobrevivem sem as enormes limitações que a insuficiência cardíaca ocasionava. Antes do transplante, alguns mal tinham força para alimentar-se sozinhos.

Esse procedimento, entretanto, ainda está nos seus primórdios, pois, como assinalado anteriormente, as células-tronco estromais podem se diferenciar em adipócitos, osteócitos e outros tipos celulares que não apenas não são contráteis como podem ocasionar maiores danos ao coração lesado. Uma pergunta que os pesquisadores se empenham em responder é: como *ensinar* as células-tronco a estabelecer-se nos locais onde são necessárias e diferenciar-se em um tipo específico? Não há dúvida de que as moléculas da matriz extracelular e fatores secretados ou presentes na superfície das células de um tecido específico exercem influência decisiva nesse processo. Aparentemente, uma vez colocadas junto ao tecido muscular cardíaco, as células-tronco são induzidas pelas células vizinhas a se diferenciar nesse mesmo tipo celular.

CÉLULAS-TRONCO NERVOSAS

A descoberta de células-tronco no **cérebro** causou grande euforia, pois abriu a perspectiva de cura para doenças degenerativas, como os males de Alzheimer e de Parkinson, além de possibilitar a recuperação de seqüelas causadas por acidentes. Apesar disso, no cérebro adulto essas células dão origem apenas a células da glia (astrócitos e oligodendrócitos), embora se saiba que durante o desenvolvimento embrionário as células das cristas neurais resultem tanto em células da glia como em neurônios e, conforme suas rotas de migração no embrião, em músculo liso e melanócitos. A indução da diferenciação dessas células em neurônios funcionais ainda não foi estabelecida.

Entretanto, continua havendo a possibilidade de que sejam descobertos fatores que induzam à proliferação e migração de células-tronco do sistema nervoso central para áreas lesadas. Essa esperança provém da observação de que, em roedores, células-tronco provenientes do hipocampo foram cultivadas *in vitro* e reimplantadas próximo ao bulbo olfatório no cérebro do animal doador, onde formaram sinapses e passaram a se comportar como neurônios olfatórios.

Um outro resultado animador foi obtido na Suécia, onde, graças a uma legislação particular, foram realizados implantes de células-tronco retiradas de embriões em pacientes portadores do mal de Parkinson, doença degenerativa em que os neurônios secretores de dopamina são destruídos. Esses pacientes apresentaram uma significativa melhora do quadro clínico; entretanto, esse tipo de terapia não se tornou rotineiro nem naquele país. Além disso, o mesmo tipo de tratamento falhou em portadores do mal de Alzheimer.

A utilização de células-tronco neuronais possui um fator complicador adicional: os novos neurônios deverão refazer as rotas sinápticas perdidas com a destruição das fibras nervosas (axônios, veja Aula 10) originais. Entretanto, estamos apenas assistindo ao nascimento da tecnologia das células-tronco, e os progressos nesta área não apenas têm sido fantásticos como também muito rápidos.

A RENOVAÇÃO DOS EPITÉLIOS

No **epitélio do trato digestivo**, as células-tronco se localizam em criptas (**Figura 12.8**) e dão origem a muitos tipos celulares: células absorptivas, secretoras (de muco), de Paneth (relacionadas à imunidade) e enteroendócrinas. A renovação desse epitélio é muito rápida, apesar de as células-tronco ali se dividirem apenas uma vez a cada 24 horas. Já o ciclo celular nas células intermediárias (ainda não completamente diferenciadas) leva apenas duas horas, evidenciando o efeito amplificador da proliferação dessas células.

O mais interessante nesse sistema é como essas células-tronco dão origem a células tão diferenciadas (só as células enteroendócrinas podem ser de mais de quinze tipos!); além disso, a distribuição dessas células também não é aleatória. As células de Paneth permanecem no interior das criptas, enquanto as demais migram para a superfície. Subtipos de laminina distribuídos diferencialmente na lâmina basal das criptas e das vilosidades parecem sinalizar o sentido de migração dos diferentes tipos celulares (**Figura 12.8**).

Um ponto interessante é que, em camundongos com mutação para o gene da proteína sinalizadora *notch* (ela, de novo), é produzida uma quantidade excessiva de células enteroendócrinas, em detrimento dos demais tipos. Um outro tipo de mutação, em outro gene regulador,

dá origem a camundongos em que as células estão todas na superfície e não há formação de criptas nem manutenção de células-tronco, o que impede a renovação do epitélio intestinal e causa a morte dos portadores logo após o nascimento.

A polêmica das células-tronco embrionárias

Embora muito se tenha avançado no conhecimento e na aplicação terapêutica das células-tronco de adultos, elas apresentam algumas limitações importantes. A primeira é que seu cultivo é mais difícil do que o de células obtidas a partir de blastocistos. Outra é o fato de que as células-tronco de vários tipos celulares (neurônios, por exemplo) são de difícil identificação. O tratamento de doenças geneticamente determinadas também não pode ser feito com células-tronco de seu portador. Os implantes de células-tronco da medula óssea envolve riscos, muitos deles ainda desconhecidos, pois células com diferentes comprometimentos de diferenciação são injetadas num determinado tecido. Um dos riscos é terminar desenvolvendo tecido ósseo entremeado ao músculo cardíaco, o que já aconteceu em experimentos com animais.

A cada ano, as clínicas de fertilização são obrigadas a descartar um enorme número de blastocistos que “sobram” dos tratamentos de fertilização assistida. Esses blastocistos nunca serão implantados no útero de nenhuma mulher. São células ainda muito distantes do que se poderia chamar de feto. Muito se poderia aprender sobre o processo de proliferação e diferenciação celular utilizando esses blastocistos. Muitas vidas poderiam ser salvas se essas células pluripotentes pudessem ser utilizadas para a recuperação funcional do pâncreas de um diabético ou das conexões nervosas de um paciente com mal de Alzheimer ou lesão da medula; entretanto, pressões de grupos religiosos têm conduzido os governos da maioria dos países a vetar essas pesquisas.

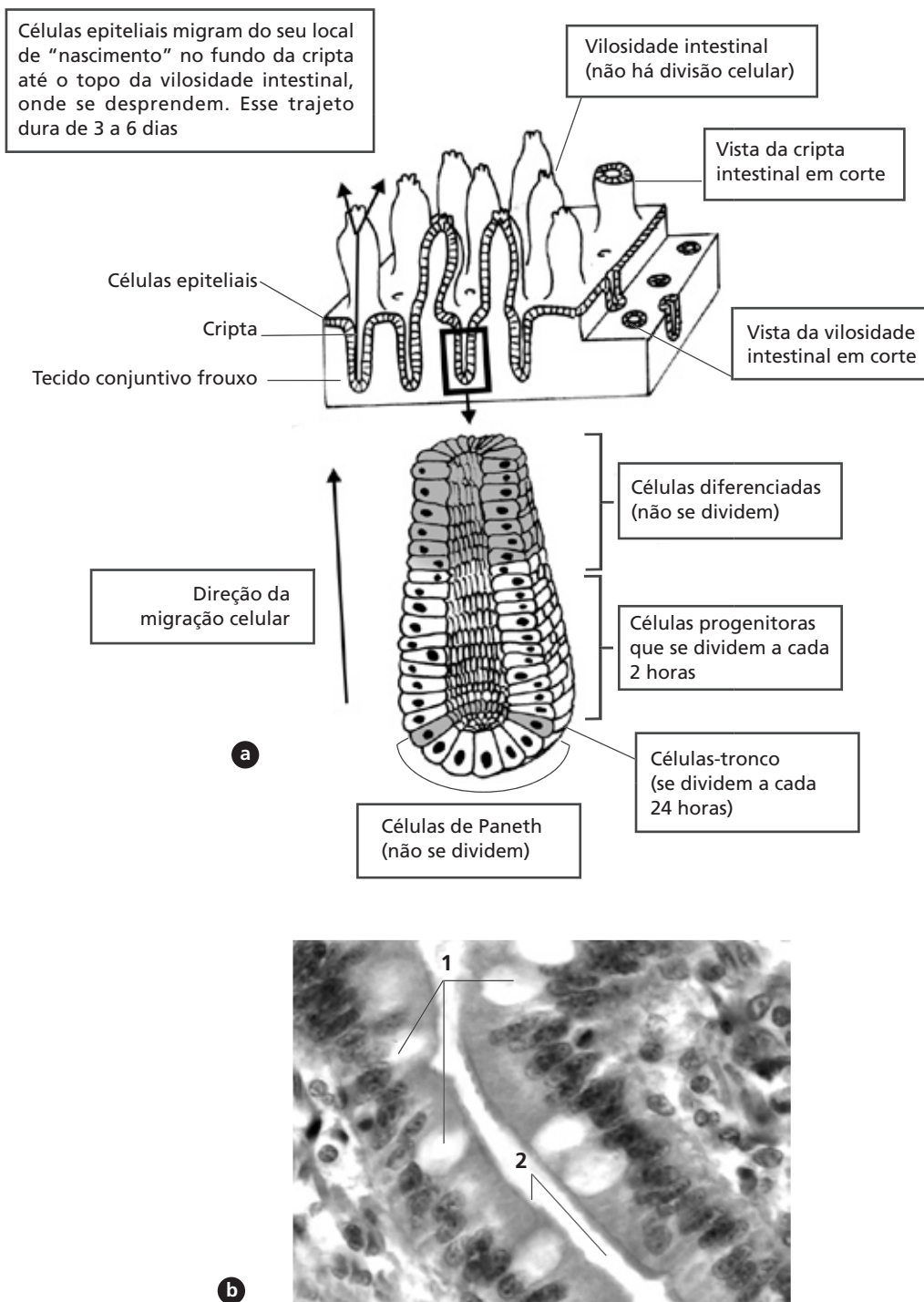


Figura 12.8: (a) A renovação do epitélio intestinal depende de células-tronco residentes em criptas. A rápida divisão dessas células dá origem a outras células, chamadas progenitoras, que ao alcançar a superfície das vilosidades geram os diferentes tipos celulares. As células de Paneth também se originam a partir das células-tronco, mas migram na direção do fundo da cripta. (b) Corte histológico do intestino delgado. Estão apontadas (1) as células caliciformes (secretoras de muco) e (2) as células absortivas. Imagem cedida do Atlas digital do Laboratório de Microscopia eletrônica da UERJ <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/Menu.htm>.

Enquanto ao epitélio digestivo cabe absorver todos os nutrientes atuando como uma barreira seletiva entre o meio extra e o intracorporal, daí sua estrutura – uma fina camada de células fortemente ligadas umas às outras através de junções de adesão e de oclusão (Aulas 5 e 6) – a pele, é essencialmente relacionada à função de revestimento. A absorção de substâncias através da pele é muito pequena, cabendo a este verdadeiro órgão impedir, por um lado, a perda excessiva de fluidos e sais corporais e, pelo outro, o efeito de agentes ambientais sobre o organismo (Figura 12.9). A impermeabilidade da pele depende de duas de suas características: 1 – a camada mais externa, composta por células mortas e queratinizadas que descamam constantemente (veja o box mais adiante); 2 – das junções de adesão e de oclusão.

Figura 12.9: Sem a pele, seríamos verdadeiras esponjas sob a chuva e secaríamos rapidamente sob o sol. A pele nos protege de variações no meio interno, mesmo que as condições externas mudem o tempo todo.



MULTIESTRATIFICADA
Em muitas camadas,
ou estratos.

A estrutura **MULTIESTRATIFICADA** da pele (Figura 12.10) foi, certamente, um dos fatores capitais para o sucesso da conquista do ambiente terrestre. Em contato com a lâmina basal, as células são mais indiferenciadas. Nessa camada estão as células-tronco. Acima desta, está a camada espinhosa, que tem este nome pelo seu aspecto, resultante da grande quantidade de desmossomas que se forma entre suas células. Após a camada espinhosa, situam-se as células granulosas, onde, além de junções de adesão, junções de oclusão formam uma barreira eficaz contra perda de líquidos e sais para o meio externo. As células desta camada também contêm grânulos de melanina, responsáveis pela coloração da pele. Progressivamente as células granulosas vão morrendo, formando várias camadas de células mortas e queratinizadas.

As camadas externas da pele são substituídas centenas de vezes ao longo de nossa vida. Na camada basal, residem as células-tronco indiferenciadas que capitaneiam o processo de divisão e diferenciação.

Essas células são ricas na integrina β , que as mantém fortemente aderidas à lâmina basal (onde estão os receptores para essa integrina). Completada a divisão dessas células, as células-filhas que expressarem menos integrinas se descolarão da membrana e iniciarão o processo de migração e diferenciação para as camadas superiores da pele.



A descamação das células queratinizadas é um dos principais constituintes do pó que se acumula sobre os móveis de nossa casa. Ácaros microscópicos costumam se alimentar dessas células. Esses ácaros são poderosos alérgenos para diversas pessoas. Portanto, se você é alérgico à poeira, temos uma novidade para você: sua alergia é causada por ácaros que se alimentam de sua própria pele morta!

Nesse trajeto, diferentes tipos de queratina, característicos para cada camada, vão sendo expressos, ao mesmo tempo que o núcleo e as organelas citoplasmáticas vão se degradando através de uma rota de morte celular programada, ou **apoptose** (esse assunto será estudado no futuro).

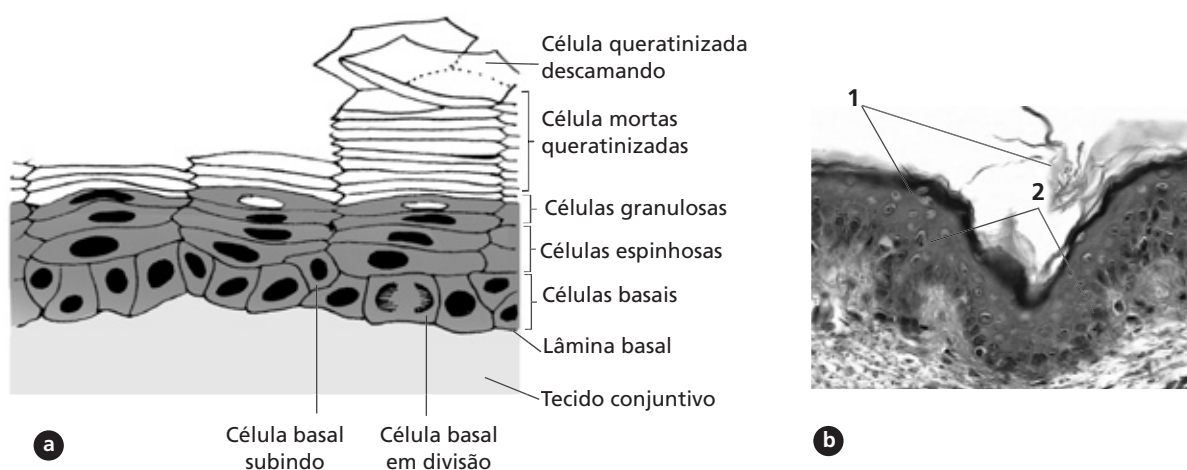


Figura 12.10: (a) Representação esquemática das diversas camadas da pele. (b) Corte histológico de pele apontando (1) a camada de células mortas e queratinizadas e (2) as diversas camadas do epitélio. Imagem cedida do Atlas digital da UERJ retirada do site <http://www2.uerj.br/~micron/atlas/menu.htm>.

A proliferação *in vitro* de células epiteliais já é uma realidade e tem sido empregada no tratamento de queimados. Para isso muito contribuíram as pesquisas sobre a interação entre células epiteliais e moléculas da membrana basal, demonstrando mais uma vez que a pesquisa básica não pode nem de longe ser considerada um luxo inútil. Quando menos se espera, aqueles conhecimentos que pareciam tão teóricos tornam-se fundamentais para a resolução de uma questão prática.

CONCLUSÕES

A terapia celular, utilizando células-tronco, vem avançando rapidamente. As limitações decorrentes da proibição da utilização de embriões humanos em quase todos os países, inclusive o Brasil, vêm sendo superadas pelos avanços obtidos no conhecimento das potencialidades de diferenciação das células-tronco adultas. A médio prazo essa tecnologia deverá substituir em larga escala, e com muitas vantagens, os transplantes de órgãos.

Para que esse objetivo seja atingido, é fundamental tornar rotineiros os seguintes processos:

- coleta e proliferação extensiva de células-tronco, a fim de gerar quantidades suficientes de células;
- domínio das etapas de indução da diferenciação em tipos celulares predeterminados;
- integração anatômica e funcional das células transplantadas ao tecido adjacente.

Um procedimento já disponível em alguns hospitais e centros de pesquisa é a preservação, por congelamento, de células-tronco do cordão umbilical. Assim, o indivíduo disporia de uma fonte de células-tronco do tipo e do doador ideais (embrionárias e autólogas) para utilização em caso de necessidade.

RESUMO

- Células-tronco são células indiferenciadas pluripotentes, isto é, podem se dividir e originar diversos tipos celulares.
- No desenvolvimento embrionário, até o estágio de 16 células, as células do embrião permanecem totipotentes, isto é, se dissociadas umas das outras cada uma pode originar um indivíduo completo.
- Células retiradas da massa interna do blastocisto possuem potencial de originar qualquer tipo celular, exceto a placenta.
- Ao se dividir, uma célula-tronco dá origem a uma célula igual a ela e outra comprometida para diferenciação.
- Conforme se multiplica e se diferencia, esta célula amplifica o efeito de propagação da célula-tronco original.
- Embora já tenham sido clonados animais completos, como a ovelha Dolly, o grande potencial de manipulação de células-tronco embrionárias seria a regeneração de tecidos e células danificados por traumas ou doenças, como a artrose e a diabetes.
- No adulto, persistem células-tronco pluripotentes em diversos órgãos.
- Na medula óssea, coexistem dois tipos de células-tronco: as hematopoiéticas e as estromais.
- A regeneração de neurônios é particularmente complicada, pois, além de proliferar, os axônios dessas células devem seguir um caminho determinado e recompor as sinapses com outras células.
- Na pele, as células-tronco permanecem na camada basal, enquanto no epitélio intestinal residem em criptas. Um mesmo tipo de célula-tronco dá origem a vários tipos de célula epitelial.
- A terapia celular já permite a “fabricação” em laboratório de pele para enxertos em vítimas de queimaduras.
- Células-tronco estromais injetadas no coração de enfartados provocaram melhora na contratilidade de áreas lesadas do coração dessas pessoas.
- Existe a possibilidade de recuperação funcional de ossos e cartilagens, assim como de órgãos como pâncreas e fígado, com o uso da terapia celular.

EXERCÍCIOS

1. O que caracteriza uma célula-tronco?
2. O zigoto é uma célula-tronco?
3. O que é o blastocisto?
4. De onde são retiradas as células-tronco embrionárias?
5. Como se pode produzir um animal clonado, como a ovelha Dolly?
6. Qual a principal desvantagem da clonagem de animais?
7. O que são células-tronco do adulto?
8. Que tipos de células-tronco existem na medula óssea?
9. Que tipos celulares podem originar-se a partir deles?
10. O que determina se, ao se dividir, uma célula-tronco vai entrar em diferenciação ou permanecer indiferenciada?
11. Onde se localizam as células-tronco do epitélio intestinal?
12. Onde se localizam as células-tronco do tecido muscular esquelético?
13. Em que aplicações terapêuticas as células-tronco já estão sendo utilizadas?
14. Quais as perspectivas de uso dessas células para outras doenças?

A célula apoptótica

objetivos

- Definir morte celular programada
- Diferenciar apoptose de necrose
- Listar e caracterizar as fases do processo de apoptose e a sua base molecular
- Diferenciar as duas vias possíveis de morte por apoptose
- Enumerar exemplos biológicos de ocorrência da apoptose
- Enumerar exemplos de outros tipos de morte celular programada

Pré-requisito

Para acompanhar melhor esta aula, você deverá rever as Aulas 13 e 14 de Biologia Celular I (Receptores de membrana e princípios de sinalização celular I e II) e também a Aula 1 de Biologia Celular II (O ciclo celular).

INTRODUÇÃO

MORTE CELULAR PROGRAMADA

Processo celular ativo que leva à morte celular. Geralmente ocorre em resposta a fatores ambientais ou a danos fisiológicos detectados pela célula.

APOPTOSE

Tipo de morte celular programada caracterizada por mudanças morfológicas específicas. O nome vem do grego antigo e significa queda de folhas ou pétalas. A apoptose é observada em células de metazoários, incluindo plantas e animais, com genes específicos responsáveis pela expressão de proteínas essenciais para o processo.

Em um organismo multicelular, as células possuem mecanismos finos de controle para regular os processos de proliferação e sobrevivência, para crescer e dividir (Aulas 1 e 2). O número de células presentes em um organismo é muito bem regulado pela ação conjunta dos processos de proliferação e de morte celular.

As células podem morrer de duas maneiras: acidental ou programada. Os processos de morte não-acidental são promovidos e finamente regulados por proteínas sintetizadas pela própria célula que irá morrer. Tal “suicídio celular” é chamado de **MORTE CELULAR PROGRAMADA**. Este processo pode ocorrer em resposta a diversos sinais ambientais e é detectado, regulado e ativado por um complexo sistema molecular.

Existem diversos tipos de morte celular programada. O primeiro tipo, e também o mais comumente observado, é a **APOPTOSE**, que apresenta um conjunto de características morfológicas e moleculares específicas a serem abordadas nesta aula. Também veremos como esse processo ocorre em diversas etapas de nosso desenvolvimento e como falhas nessa função estão relacionadas a algumas doenças.

AS CÉLULAS NASCEM, CRESCEM, REPRODUZEM-SE E... MORREM!

Cada uma das células que convive em um organismo multicelular é exposta a centenas de diferentes sinais ambientais. Receber e enviar sinais é fundamental para a sobrevivência de qualquer célula (como foi visto na Aula 13 de Biologia Celular I). A combinação destes sinais é específica para cada tipo celular, e alguns deles levam a processos de proliferação e diferenciação. Já a ausência de sinais (não apenas os de proliferação) aciona uma maquinaria molecular que ativa um programa de suicídio celular.

O nome morte celular programada deve-se ao fato de ser um tipo de morte organizado e orquestrado pelo próprio genoma da célula. Observa-se a ocorrência de morte celular programada mesmo em alguns protozoários, e até acredita-se que nestes seres isto atue como um mecanismo de controle populacional. Uma situação de superpovoamento conduz à redução ambiental de nutrientes (ausência de sinais de sobrevivência), e isso induziria uma diminuição populacional. Acredita-se também que protozoários infectados por vírus podem suicidar-se para

evitar que a infecção se alastre para o restante da população. De uma maneira altruísta ou defensiva, os microorganismos foram os primeiros a utilizar mecanismos de morte celular programada.

Historicamente, a morte celular programada foi descrita no século XIX por **CARL VOGT**. Ele observou “destruição celular” no desaparecimento da notocorda e no surgimento das vértebras em uma espécie de anuro. Hoje sabemos que esta “destruição celular” é fruto de mecanismos de morte celular programada. Em 1863, **AUGUST WEISMANN**, pesquisando o desenvolvimento embrionário de moscas, descreveu o processo de “histólise”: células mortas extremamente vacuolizadas, com núcleos condensados. Naquela época não se deu muita atenção a estas observações, e o tempo passou.

Em 1972, o patologista australiano **ANDREW WYLLIE** e seus colaboradores descreveram pela primeira vez um processo de morte celular programada, que foi então chamado apoptose. Este tipo de morte celular, por ser o mais importante e mais bem descrito, será o objeto principal de estudo desta aula. Mas não podemos ter pressa! Antes disso, precisamos diferenciar a apoptose do principal tipo de morte acidental celular: a **NECROSE**.

A DIFERENÇA ENTRE SUICÍDIO E ASSASSINATO (APOPTOSE VERSUS NECROSE)

Didaticamente, consideramos a existência de duas vias primárias que levam células a morrer. O processo relacionado à morte celular não programada mais conhecido é a necrose. Este tipo de morte celular ocorre quando as células recebem algum tipo de injúria, seja ela química ou física, causada sempre por agentes externos. Exemplos de necrose são observados quando células são expostas a condições extremas de temperatura, falta de oxigênio (isquemia), traumas físicos, entre outros. É importante lembrar que a necrose não é



CARL VOGT
(1817-1895)

Naturalista suíço, árduo defensor das idéias de Darwin, foi o primeiro reitor da Universidade de Genebra, onde trabalhou com histologia animal comparada, geologia, entre outros assuntos.

Foi o primeiro a descrever os sifonóforos. Saiba mais sobre Vogt e sua obra no site www.darse.org/images/portrait_vogt.jpg



ANDREW WYLLIE

Patologista australiano, chefe do Departamento de Patologia da Universidade de Cambridge (Inglaterra), criador do termo apoptose.

NECROSE

Também conhecida como morte celular acidental, é fruto de um dano externo – lesão por agente químico ou físico – à célula. Não ocorre a expressão de moléculas específicas para este processo.



AUGUST WEISMANN
(1834-1914)

Biólogo alemão, trabalhou principalmente com embriologia de insetos e crustáceos.

Foi um dos primeiros cientistas a discordar das idéias de Lamarck, mostrando que os caracteres adquiridos não são herdados. Saiba mais no site www.nceas.ucsb.edu/~alroy/lefa/Weismann.html

um processo mediado pela ativação de proteínas específicas, como na apoptose. A morte necrótica é geralmente catalisada por enzimas lisossomais e pelo rompimento das organelas celulares. Além disso, a morte celular por necrose geralmente atinge várias células ao mesmo tempo, em uma mesma região (diferentemente da apoptose), já que os agentes causadores de necrose geralmente atingem grandes áreas celulares.

A morte necrótica (Figura 13.1) caracteriza-se inicialmente pela perda da integridade da membrana plasmática após o trauma. Este fato

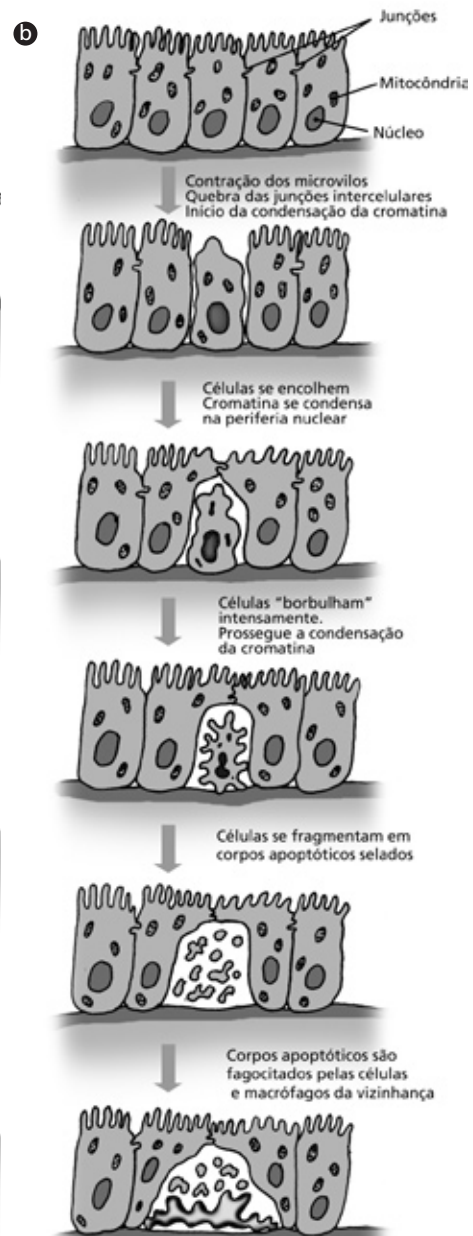
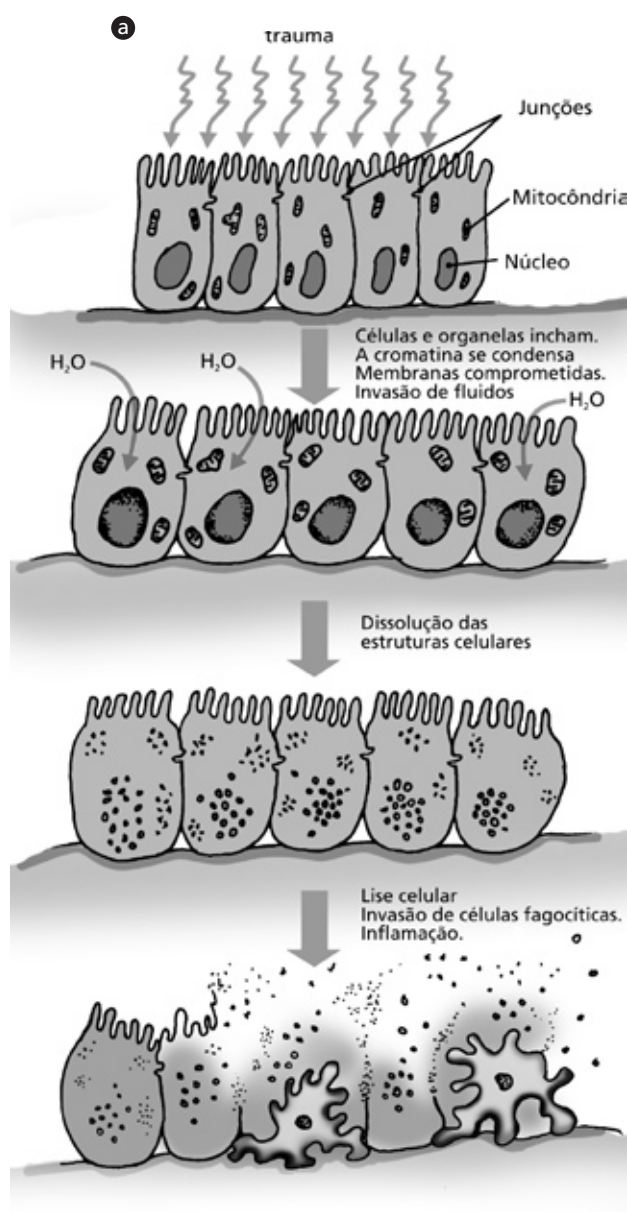


Figura 13.1: (a) Seqüência da morte celular por necrose. (b) Seqüência da morte celular por apoptose.

permite que ocorra uma abrupta e brutal entrada de água no interior da célula, resultando em um inchaço da célula e de suas organelas. Com a continuidade deste processo, as organelas rompem-se e extravasam no interior do citoplasma seus constituintes. Como resultado, a célula começa a sofrer um processo de *autodigestão*, no qual enzimas estocadas em organelas específicas como endossomas e lisossomas começam a degradar os constituintes citoplasmáticos. Esta degradação, somada à contínua entrada de água, acarreta a ruptura total da membrana plasmática e o posterior extravasamento dos constituintes citoplasmáticos no meio extracelular (**Figura 13.2**). Estes conteúdos internos da célula (que normalmente nunca estão no meio extracelular) induzem a invasão de células fagocíticas (macrófagos) que irão ativar uma forte **RESPOSTA INFLAMATÓRIA** do organismo.

Diferentemente da necrose, a apoptose é um tipo de morte celular altamente organizado, tanto no núcleo quanto no citoplasma. É também uma morte *silenciosa*, já que não induz resposta inflamatória do organismo. Geralmente acomete células isoladas e é um processo catalisado por moléculas que possuem a função específica de ativá-la.

A apoptose se caracteriza por uma sequência de eventos (**Figura 13.1**) bem previsíveis. Inicialmente, as células apoptóticas sofrem um drástico murchamento de sua estrutura, bem ao contrário do que acontece na necrose, em que as células incham. Em um epitélio, por exemplo, uma célula que entrou em processo de apoptose começará a perder as suas microvilosidades e a desfazer as junções intercelulares. Um fato importante, que chama muita atenção, é que a cromatina desta célula começa a condensar, concentrando-se na periferia do núcleo. Na etapa seguinte, o citoplasma da célula apoptótica começa a sofrer violentas movimentações, dando impressão de que a célula está borbulhando (**Figura 13.2**). Este processo, conhecido por **BLEBBING** (*borbulhamento*), leva a célula apoptótica a fragmentar-se em diversos pedaços completamente selados por membrana. Estes fragmentos são os corpos apoptóticos. As organelas também se fragmentam, mas sem nenhum tipo de extravasamento. Nesse ponto, já são observados fragmentos do núcleo carregando pedaços de cromatina hipercondensada que será fragmentada nas etapas posteriores da apoptose.

RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Resposta imune local de um tecido a um dano ou infecção, causada geralmente por leucócitos ou macrófagos, ao lançarem no local mediadores (como a histamina) que causam dor no organismo.

BLEBBING DE MEMBRANA

Também conhecido como zeiose, é a intensa movimentação do citoplasma, fruto de uma atividade ainda não muito conhecida das proteínas do citoesqueleto. Em videomicroscopia, observa-se uma frenética formação de bolhas na célula. Estas bolhas, por sua vez, estarão carregadas de pedaços de organelas e núcleo com cromatina fragmentada. Este evento, mesmo sendo violento, garante que não ocorra rompimento das membranas da célula. Para ver um interessante vídeo de zeiose, viaje pela Internet em www.cellsalive.com/apop.htm

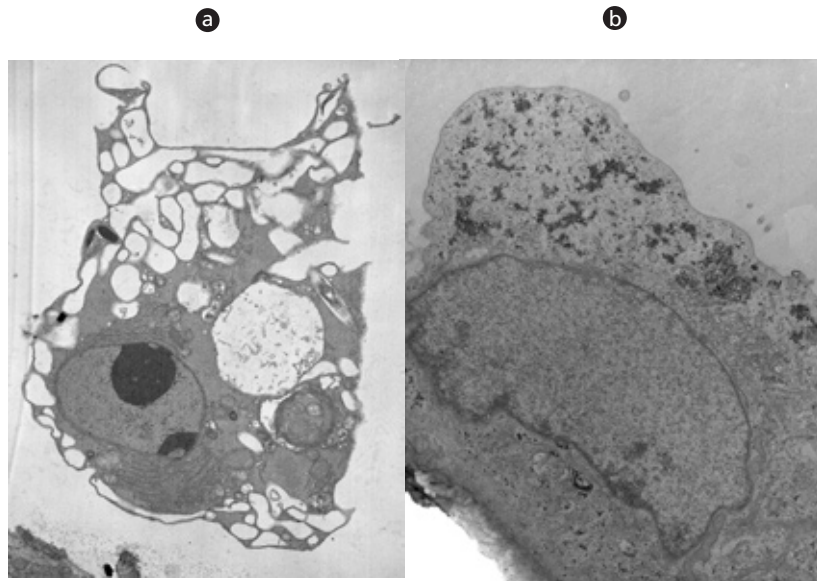


Figura 13.2: A figura (a) é de um macrófago apoptótico: note a intensa vacuolização e massas de cromatina condensada no núcleo. Compare com a figura (b), de uma célula normal.

Estes corpos apoptóticos, contendo pedaços de organelas e do núcleo, modificam drasticamente a composição da membrana plasmática, expressando no folheto externo o fosfolípido FOSFATIDILSERINA que, em células viáveis de mamíferos, é encontrado somente no folheto interno da membrana plasmática (Aula 7 de Biologia Celular I). Nos tecidos, esses corpos apoptóticos são fagocitados por células da vizinhança (que não são células fagocíticas profissionais) ou por macrófagos (**Figura 13.3**). Como os constituintes citoplasmáticos não foram extravasados, os macrófagos não ativam a resposta inflamatória. Daí vem o termo morte silenciosa, já que o organismo não sofrerá nenhum “efeito colateral” com a morte de uma ou mais células por apoptose.

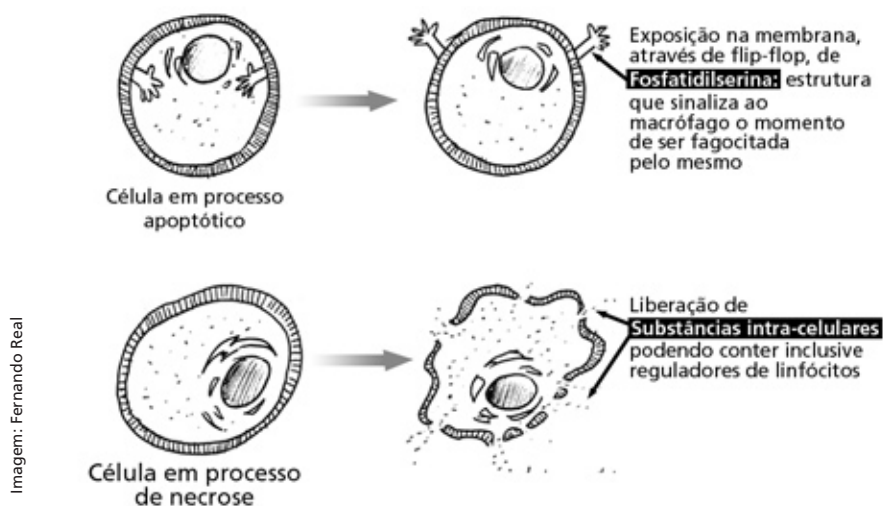


Figura 13.3: Os corpos apoptóticos são compartimentos selados contendo fragmentos do núcleo e de organelas que expõem na sua superfície fosfatidilserina. Na necrose o conteúdo citoplasmático é extravasado.

Parece difícil? Não é não! Toda esta sequência de eventos da apoptose é mediada por um sistema molecular, ou seja, a apoptose funciona tão maravilhosamente graças a uma base molecular de sinalização. Certas moléculas especiais serão responsáveis por cada etapa descrita anteriormente. Agora, prepare-se: vamos nos aprofundar nesse mundo interessante e descobrir quem são os *atores* e *atrizes* responsáveis por todo esse processo e como eles atuam.



O parasita esperto - a translocação de fosfatidilserina do folheto interno para o folheto externo da membrana é um importante passo para a eliminação dos corpos apoptóticos, já que este fosfolípido no folheto externo "chama a atenção" de macrófagos, que logo fagocitarão estes corpos. Parasitas do gênero *Leishmania*, que necessitam viver dentro de macrófagos para sobreviver e dividir-se, expressam fosfatidilserina na sua superfície para estimular a sua internalização pelos macrófagos.

BASES MOLECULARES DA APOPTOSE

A morte celular por apoptose é um evento extremamente organizado. Toda a sequência de alterações morfológicas descritas anteriormente funciona graças a uma rede de sinalização celular ativada pela célula que entra no processo de apoptose. Para facilitar o estudo, dividiremos as bases moleculares da apoptose em seis etapas:

- (1) Estímulo: qual é o tipo de estímulo que dispara a apoptose?
- (2) Geração do sinal intracelular: em que o estímulo foi transformado?
- (3) Propagação intracelular do sinal
- (4) Ativação dos efetores: atividade de enzimas (caspases) que iniciam a conversão da célula ao fenótipo apoptótico
- (5) Clivagem de proteínas celulares pelas caspases.
- (6) Formação e eliminação dos corpos apoptóticos.

Muita calma, pessoal! Nós vamos montar, etapa por etapa, este interessantíssimo quebra-cabeça.

A ATIVAÇÃO DA APOPTOSE: O ESTÍMULO

A indução da apoptose em células de mamíferos pode ocorrer de duas maneiras distintas. A apoptose pode ser ativada por um estímulo externo, que é geralmente fruto de uma interação receptor-ligante (Aula 13 de Biologia Celular I). Neste caso particular, as proteínas receptoras da superfície celular são chamadas receptores de morte. Estes receptores de morte ligam-se a moléculas (ligantes) que se encontram na superfície de outras células; e o resultado é a apoptose dessas células (Figura 13.4.a). O receptor de morte mais conhecido é o *Fas* (também chamado *Apo1* ou *CD95*), um tipo de receptor da família **TNF** (do inglês *tumor necrosis factor*).

TNF

(Do inglês *tumor necrosis factor*) – família de receptores de membrana relacionados à indução de morte celular programada.

LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS

São um tipo de leucócito responsável pela resposta imune adaptativa capaz de interagir com células infectadas por vírus, protozoários ou bactérias, destruindo-as.

O ligante deste receptor é chamado – muito logicamente, aliás – *Fas ligante*, e é expresso principalmente por **LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS** (Figura 13.4.b). A apoptose induzida por estímulo externo ocorre principalmente na interação destes linfócitos com células infectadas por vírus. Estas células infectadas expressam em alta quantidade o receptor *Fas* e, ao serem reconhecidos pelo *Fas ligante* da superfície dos linfócitos, entram em apoptose, o que bloqueia o prosseguimento da infecção viral (Figura 13.4.b).

A apoptose também pode ser induzida por estímulos internos. Nesta via de apoptose, a mitocôndria desempenha um papel essencial, como veremos adiante. São estímulos internos, além de certas condições de estresse e dano celular; aqueles que resultam do efeito de radiações, toxinas e drogas.

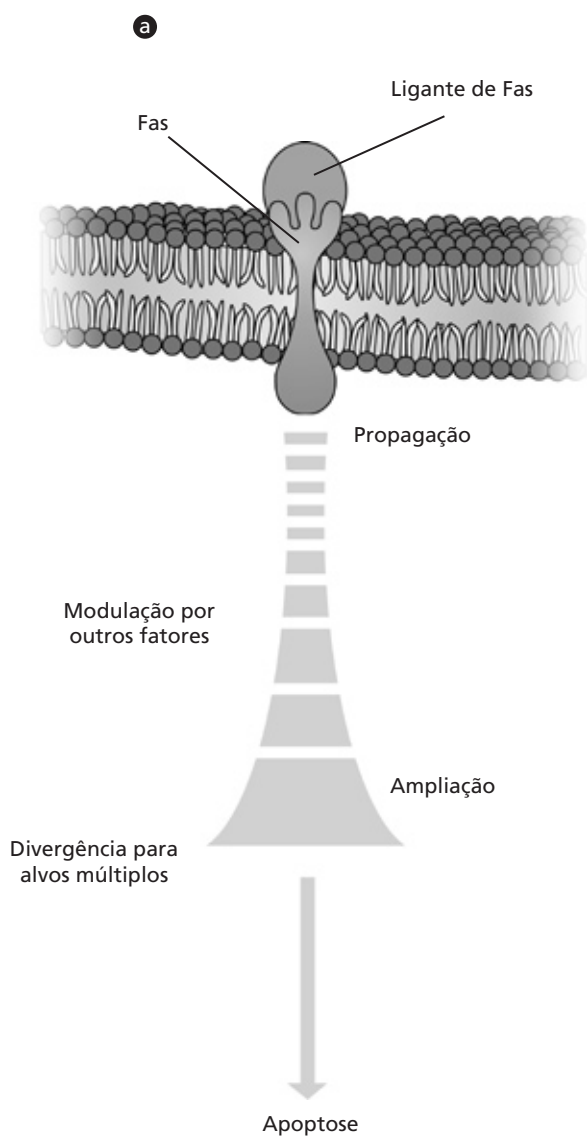
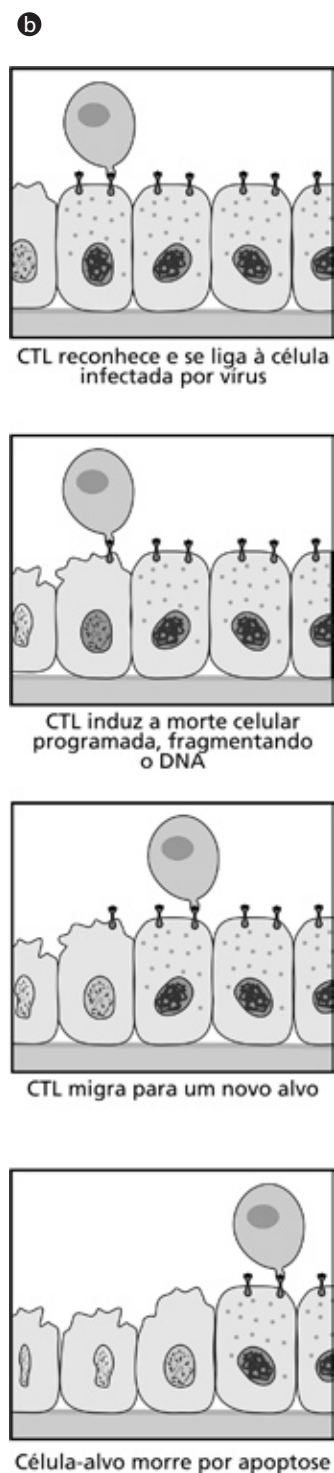


Figura 13.4: (a) A ligação entre o receptor de morte e seu ligante correspondente dispara a morte celular por apoptose. (b) Células infectadas por vírus cometem suicídio ao serem estimuladas pelo ligante de Fas.



CRIAÇÃO E PROPAGAÇÃO DO SINAL INTRACELULAR

O estímulo (interno ou externo) gera um sinal intracelular. Isto é, algumas moléculas especiais (adaptadoras) irão relacionar o sinal pró-apoptose (estímulo) a uma via de sinalização. E, finalmente, estes adaptadores irão ativar os efetores, uma classe de enzimas responsáveis pelo fenótipo de morte celular (Figura 13.4.a).

Na via externa de apoptose, após a ligação Fas/Fas ligante, uma molécula adaptadora intracelular conhecida por FADD (do inglês, *Fas-associated protein with a death domain*) irá se ligar à cauda citoplasmática do receptor Fas em uma região conhecida por domínio de morte (ou DD), presente no receptor Fas e no adaptador FADD. Por sua vez, FADD também possui um outro domínio, conhecido por DED (do inglês *death effector domain*), que irá se ligar a uma enzima da classe das caspases (que possui este domínio DED) e continuará a via (Figura 13.5).

Ufa! Tanta informação deve ter deixado você cansado! Faça uma pausa, relaxe por uns minutos antes de continuar com esta aula. Afinal, você merece!

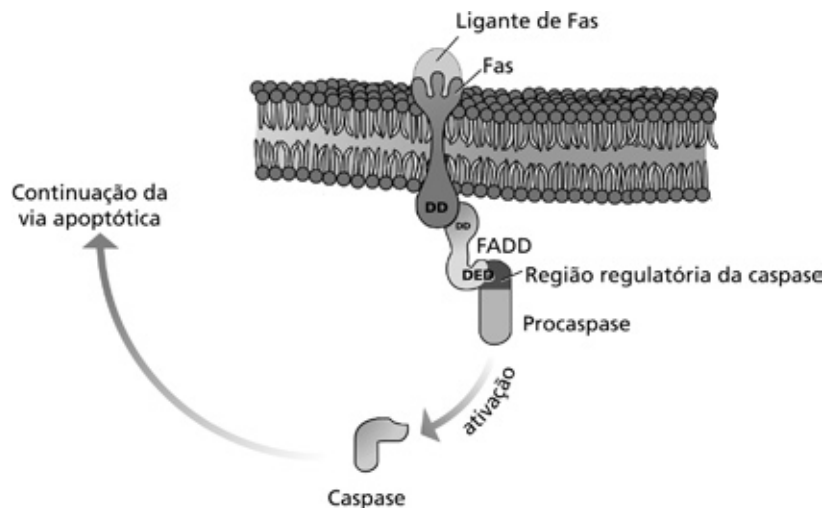


Figura 13.5: Na via externa, a proteína adaptadora FADD se liga, por um lado, à proteína Fas; pelo outro, a uma pró-caspase.

REGULAÇÃO, ATIVAÇÃO E AÇÃO DOS EFETORES DA APOPTOSE: AS CASPASES

A célula recebeu o estímulo para morrer, transformou este estímulo molecularmente e agora ocorrerá a ativação de enzimas, que

literalmente irão destruir a célula por dentro. Estas são as caspases, uma classe de enzimas fundamentais para a apoptose. As caspases são proteases (mais de 12 já foram identificadas) que possuem duas formas: uma ativa (caspase) e uma inativa (procaspase). O que diferencia estas formas é a presença de uma região regulatória que precisa ser retirada para a enzima ficar ativa. Quem retira? Uma outra caspase ativa! Nesta região regulatória estão contidos os domínios que vão se ligar às proteínas adaptadoras, como o DED. Veja na **Figura 13.6.a** como as caspases se ativam. Além de se ativarem umas as outras, as caspases são responsáveis pela clivagem das proteínas dos componentes do citoplasma e do núcleo (**Figura 13.6.b**).

CASPASES

E eu tenho isso? Tem sim, e ao contrário do que o nome sugere, elas não são proteínas “cabeludas”.

O nome caspase vem de *cysteine-protease with aspartate specificity*, ou seja, é uma protease que possui o aminoácido cisteína em seu sítio ativo, e apresenta a capacidade de clivar proteínas nas regiões que o aminoácido ácido aspártico. As caspases atuam na degradação de proteínas, como as laminas nucleares, na ativação da DNase, (ativando a degradação do DNA), de proteínas citoplasmáticas e outros eventos relacionados à morte celular programada.

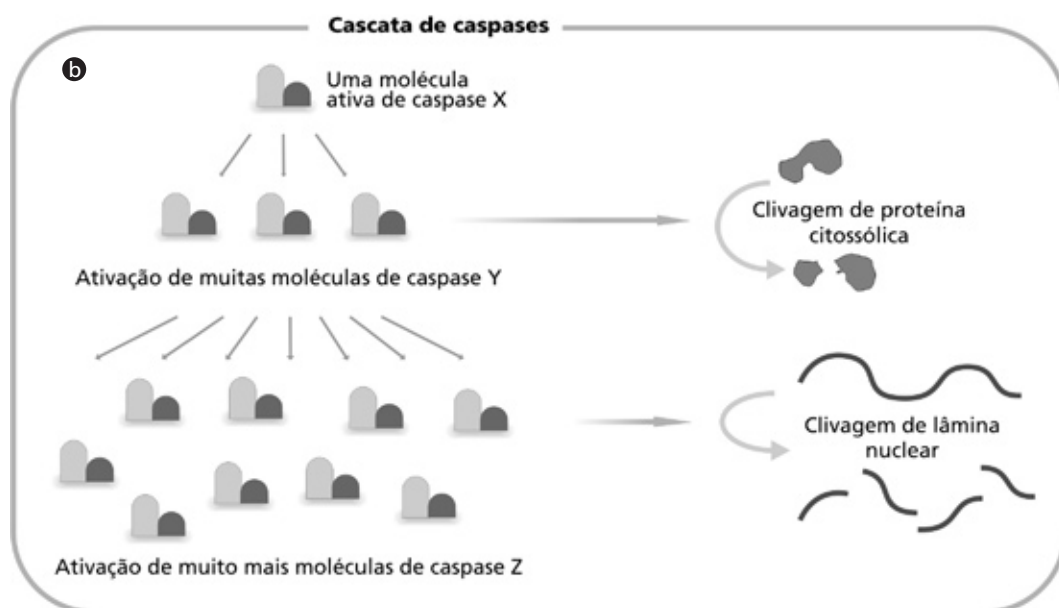


Figura 13.6: (a) Ativação das caspases: cada enzima é fabricada como uma proenzima inativa (procaspase) que será ativada por clivagem feita por outra caspase. Uma caspase ativa é composta por dois fragmentos clivados da procaspase. (b) Cascata das caspases: uma caspase ativa é capaz de ativar diversas outras caspases, que por sua vez podem ativar muito mais caspases. Além disso, estas enzimas estarão degradando substratos celulares.

A VIA EXTERNA DE ESTIMULAÇÃO

Sabendo como as caspases se ativam, podemos agora continuar a nossa história das vias de apoptose. Na via externa, a proteína adaptadora FADD, que se conectou à cauda citoplasmática do receptor Fas, está conectada também (via domínio DED) à procaspase-8, como um sanduíche (Figura 13.5). Esta ligação libera caspase-8 no citoplasma. A região regulatória (que ligava a enzima ao adaptador) permanece presa ao adaptador, já sem função, e a caspase-8 irá ativar a procaspase-3, clivando seu domínio regulador. A caspase-3 ativa é conhecida como caspase efetora, porque será ela a responsável pela clivagem de diversas proteínas celulares que resultarão no fenótipo clássico da célula apoptótica, além de ativar outras caspases, criando a cascata das caspases que levam à morte celular (Figura 13.7).

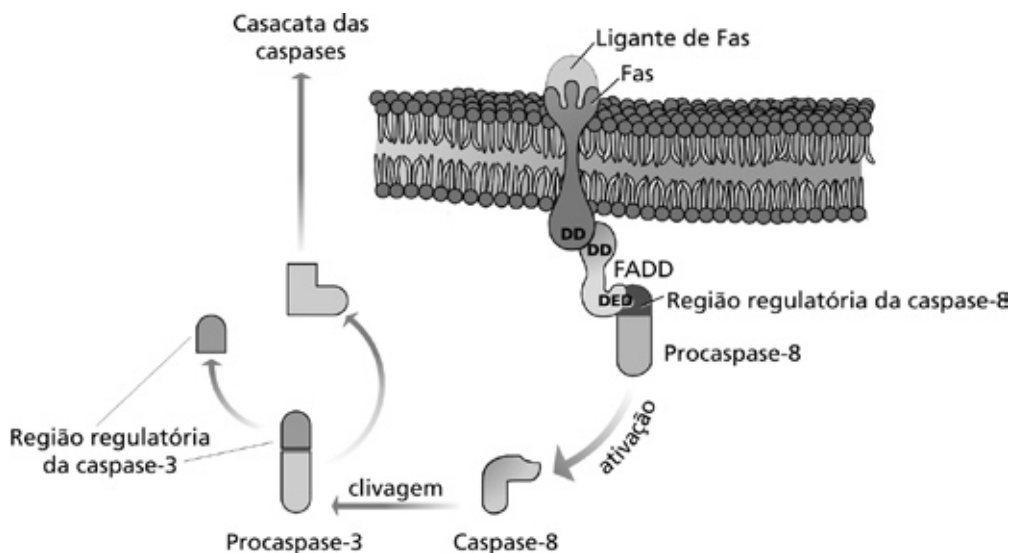


Figura 13.7: O estímulo externo ativa, via FADD, a caspase 8 que, por sua vez, ativará a caspase 3, ou caspase efetora. A partir daí, cada caspase é capaz de ativar diversas outras, gerando uma reação em cascata que se amplifica rapidamente. Além disso, estas enzimas estarão degradando substratos celulares.

A VIA EXTERNA DE ESTIMULAÇÃO: PAPEL DA MITOCÔNDRIA NA APOPTOSE

Na apoptose ativada por estímulos internos (condições de estresse), outros adaptadores serão utilizados. Estes estímulos ativarão

moléculas pró-apoptose – como as proteínas *Bax* e *Bid* – que irão ligar-se às mitocôndrias, inibindo especificamente a *Bcl-2*, uma proteína antiapoptose. Este processo resulta na formação de um poro na membrana mitocondrial, liberando, no citoplasma, *citocromo c* e outras moléculas (Figura 13.8). O citocromo *c*, um dos transportadores de elétrons da cadeia respiratória (Aula 27 de Biologia Celular I) irá se associar a uma proteína adaptadora (Apaf-1) que permitirá sua ligação a uma procaspase, formando um complexo molecular chamado apoptossomo, que levará a célula ao fenótipo apoptótico.

Resumimos, em um esquema simplificado (Figura 13.9), as duas vias possíveis de apoptose.

AS VIAS INTERNA E EXTERNA SE CONECTAM

Um fato muito curioso é que as duas vias de apoptose (a de estímulo externo e interno) podem conectar-se. É isso mesmo! Caspase-8 ativa (da via externa) pode ativar a proteína pró-apoptose Bid que ativa a via mitocondrial de morte celular (Figura 13.10).

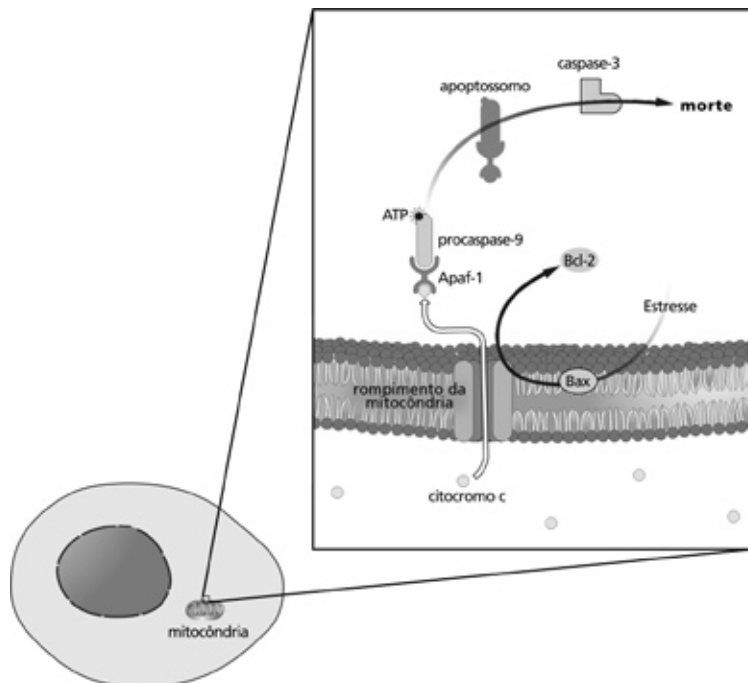
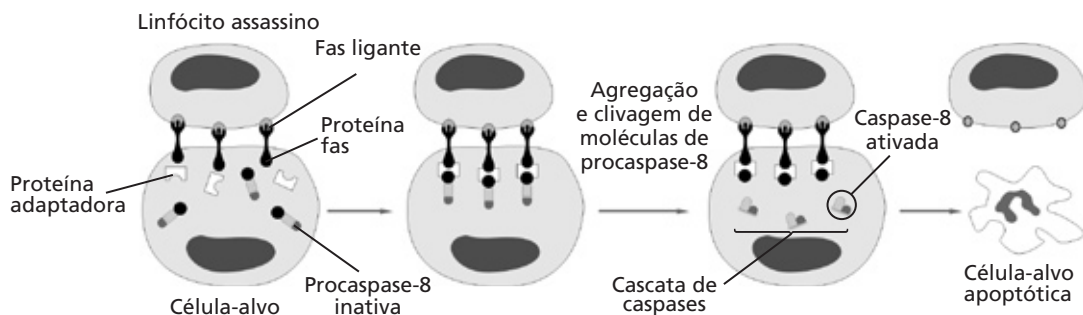


Figura 13.8: Ao se ligarem às mitocôndrias de uma célula pré-apoptótica, as proteínas *Bax* ou *Bid* inativam a proteína mitocondrial *Bcl-2*, o que resulta no extravasamento de citocromo *c* para o citoplasma. O complexo molecular formado pelo citocromo *c*, ATP, Apaf-1 e mais uma procaspase é o apoptossomo.

a) Ativação da apoptose pela via externa



b) Ativação da apoptose a partir do meio intracelular

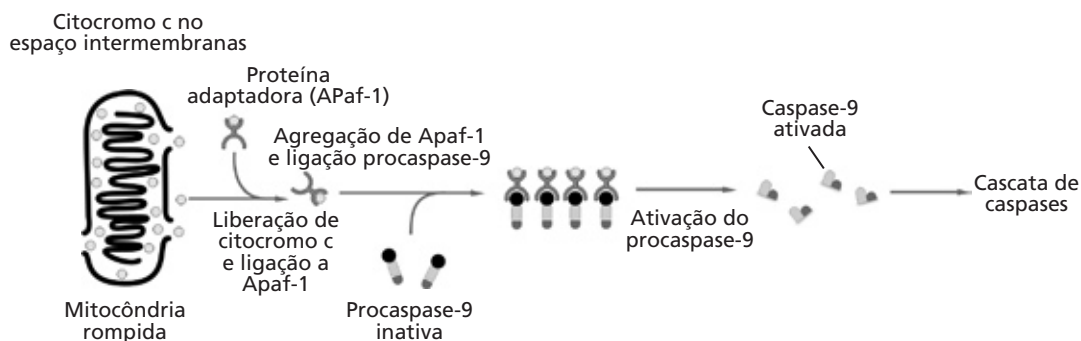


Figura 13.9: Esquema simplificado das duas possíveis vias de apoptose.

UMA VEZ INICIADA, A CASCATA APOPTÓTICA É IRREVERSÍVEL

Muito bem! A primeira caspase efetora está ativa. E agora? A ativação em cascata das outras caspases resultará na clivagem de várias proteínas. Que proteínas são estas? Muitas já estudamos em Biologia Celular I: proteínas do citoesqueleto, proteínas relacionadas ao reparo e à integridade do DNA, e outras (algumas destas proteínas estão relacionadas no Boxe de atenção a seguir). A degradação enzimática dessas moléculas-alvo é responsável pelas características típicas da apoptose, resumidas aqui:

- fragmentação nuclear (devido à degradação das laminas nucleares)
- degradação do DNA genômico (resultado da ação de DNAase)
- fragmentação de pedaços celulares envoltos por membrana (*blebbing*), devido à despolimerização de proteínas do citoesqueleto
- externalização de fosfatidilserina na membrana plasmática (pela inativação de enzimas que as mantêm viradas para o folheto interno da membrana).

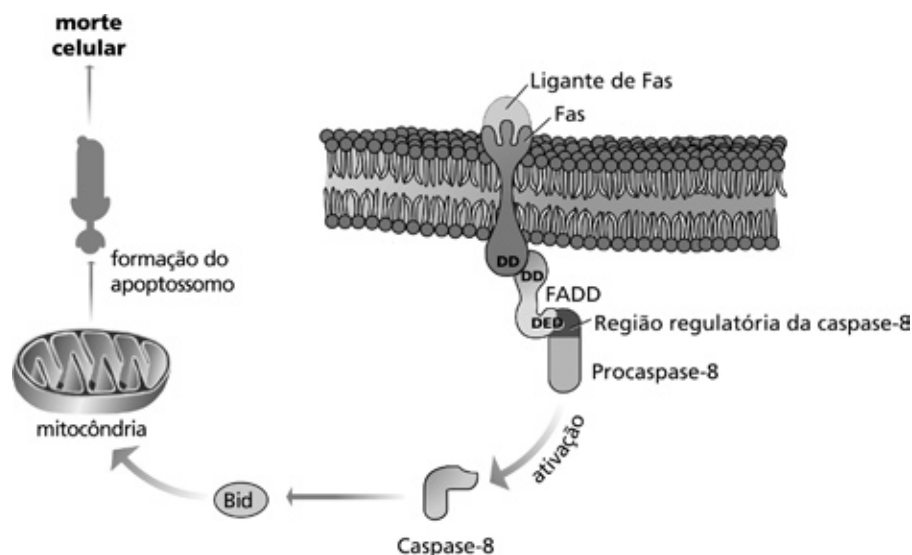


Figura 13.10: A via externa de indução de apoptose converge para ativação da proteína Bid, um dos componentes da via interna de estimulação.



Listamos abaixo algumas das proteínas clivadas na cascata apoptótica:

- GELSOLINA: proteína que se liga a microfilamentos, responsável pela estabilização destes filamentos.
- FODRINA: proteína que também se liga a microfilamentos, responsável por manter os feixes de actina paralelos entre si.
- PARP (Poli ADP Ribose Polimerase): enzima responsável por reparar danos causados no DNA.
- ICAD (inibidor da DNAse ativada por caspases): proteína que inibe o funcionamento de uma enzima que quebra DNA (a CAD). A fragmentação de DNA causada por esta enzima é específica, fragmentando DNA em múltiplos de 200 pares de bases.

Bem, neste ponto a célula já morreu e a maquinaria molecular da apoptose termina. Falta apenas o recolhimento dos corpos apoptóticos pelas outras células.

Dê agora uma outra paradinha para respirar, esticar as pernas e oxigenar os neurônios. Na volta, antes de prosseguir na aula, analise atentamente as **Figuras 13.8 e 13.9**, que descrevem com maior detalhe as bases moleculares das duas vias de apoptose. Tente identificar os estimuladores, os adaptadores, as caspases relacionadas com os adaptadores e as caspases efetoras.

FORMAÇÃO E ELIMINAÇÃO DOS CORPOS APOPTÓTICOS

Ao longo do processo de morte celular, alguns sinais moleculares que indicam a eliminação dos corpos apoptóticos vão acontecendo. Estes sinais estão relacionados à indução e facilitação da fagocitose por parte dos fagócitos profissionais e/ou das células da vizinhança. O principal sinal molecular relacionado à eliminação das células apoptóticas é a translocação do fosfolipídio de membrana fosfatidilserina do folheto interno para o folheto externo da membrana. Sabe-se que esta externalização facilita a fagocitose dos corpos apoptóticos.

Além disso, também ocorre a liberação do fosfolipídio fosfatidilcolina para o meio extracelular. Este fosfolipídio solto no meio extracelular atrai fagócitos profissionais. Por último, uma proteína de superfície celular chamada CD31 passa a apresentar uma conformação molecular diferente das células normais, e esta conformação facilita a fagocitose dos corpos apoptóticos.

Acabou! O ciclo se completou. Agora vamos dar uma olhada nos exemplos fisiológicos da apoptose nos seres humanos e aí vamos ver que este fenômeno não é tão abstrato assim. Aproveite este momento para fazer mais uma pequena pausa e “refrescar” a cabeça para impedir a “apoptose” de seus neurônios!

A IMPORTÂNCIA DA MORTE CELULAR PROGRAMADA NOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS

Os mecanismos de morte celular programada ocorrem em vários tipos celulares e são observados ainda no desenvolvimento embrionário.

No indivíduo adulto, uma grande variedade de tipos celulares sofre processos de morte celular programada (**Figura 13.11**).

- Morte celular no desenvolvimento embrionário.

Dois eventos da vida embrionária estão claramente relacionados à morte celular: a eliminação de tecidos e órgãos transitórios e o remodelamento tecidual.

São exemplos clássicos de eliminação de tecidos transitórios por apoptose a retração da cauda de girinos e a eliminação da membrana interdigital das patas de mamíferos (**Figura 13.11**).

No desenvolvimento do sistema nervoso também ocorre morte celular programada. No cérebro embrionário existe um número desnecessariamente maior de neurônios. Este excesso é uma maneira de garantir o sucesso das conexões neuronais. Logo, neurônios que não se conectarem de maneira apropriada entrarão em apoptose e serão eliminados. Em certas regiões do cérebro, mais de 80% dos neurônios morrem desta maneira durante o desenvolvimento embrionário.

Um outro exemplo interessante ocorre nas células fibrosas, que darão origem ao cristalino dos nossos olhos. Estas células sofrem apoptose nuclear (apenas o núcleo é destruído), enquanto o citoplasma permanece intacto. Estas células anucleadas (conhecidas por células fantasmas) formam o cristalino.

- Morte celular programada na saúde e na doença

Na Aula 1 desta disciplina vimos que diversos tipos celulares – como as células epiteliais, sanguíneas e os hepatócitos – possuem um tempo de vida predeterminado, após o qual morrem por apoptose e são substituídos por células diferenciadas a partir de células-tronco. A apoptose garante que, no adulto saudável, o número de células se mantenha constante.

Mecanismos de morte celular programada também atuam como uma defesa do organismo a ataques causados por vírus, bactérias e protozoários (**Figura 13.4**). Células infectadas geralmente apresentam alta expressão de receptor Fas, sinalizando para o processo de apoptose (o que é muito positivo para o indivíduo!).

Por outro lado, algumas vezes “o feitiço vira contra o feiticeiro”. É o que acontece no caso de células infectadas pelo vírus da AIDS. Este vírus infecta especificamente células do sistema imunológico,

os linfócitos T do hospedeiro. A morte induzida destes linfócitos infectados reduz vertiginosamente o número de células do sistema imunológico do paciente, comprometendo seu funcionamento em relação a qualquer agente infeccioso.

Doenças neurológicas (como a esclerose lateral amiotrófica, mal de Huntington, Parkinson e Alzheimer) estão fortemente relacionadas à capacidade dos neurônios de entrar, de maneira exagerada, nas vias de apoptose.

Na próxima aula, veremos que mecanismos de morte celular programada estão diretamente relacionados à formação e à destruição de células tumorais. Células tumorais, que crescem de maneira descontrolada, perdem a capacidade de ativar apoptose. Alguns tipos de câncer bloqueiam a morte celular graças à liberação de altos níveis de Bcl-2 (proteína anti-apoptose). Melanomas, por sua vez, têm o gene para a proteína Apaf-1 inativo, impedindo a formação do apoptossomo. Cânceres de cólon e pulmão inibem a expressão do receptor Fas, essencial para a apoptose mediada por linfócitos T. Sabendo que células cancerosas inativam suas vias de morte celular, diversos tratamentos de quimioterapia são baseados em drogas pró-apoptose (apesar de existirem diversos efeitos colaterais, já que células não transformadas poderão morrer).

Finalmente, não podemos esquecer o papel da morte celular programada no envelhecimento celular. As células podem se dividir por um número limitado de vezes, e este controle é feito pelas regiões terminais dos cromossomos (os telômeros). A cada divisão, um pedaço desta terminação cromossomal é retirado, até que, em um certo momento, o cromossomo fica instável sem os telômeros. Assim a célula, ao se dividir, não duplica seu material genético de maneira correta, ativando a proteína p53 (da qual voltaremos a falar na próxima aula), que tentará reparar o DNA mal duplicado. Caso a p53 não consiga fazer o reparo, ela ativa a apoptose. Desta forma, células mais velhas estão potencialmente predispostas a sofrerem apoptose.

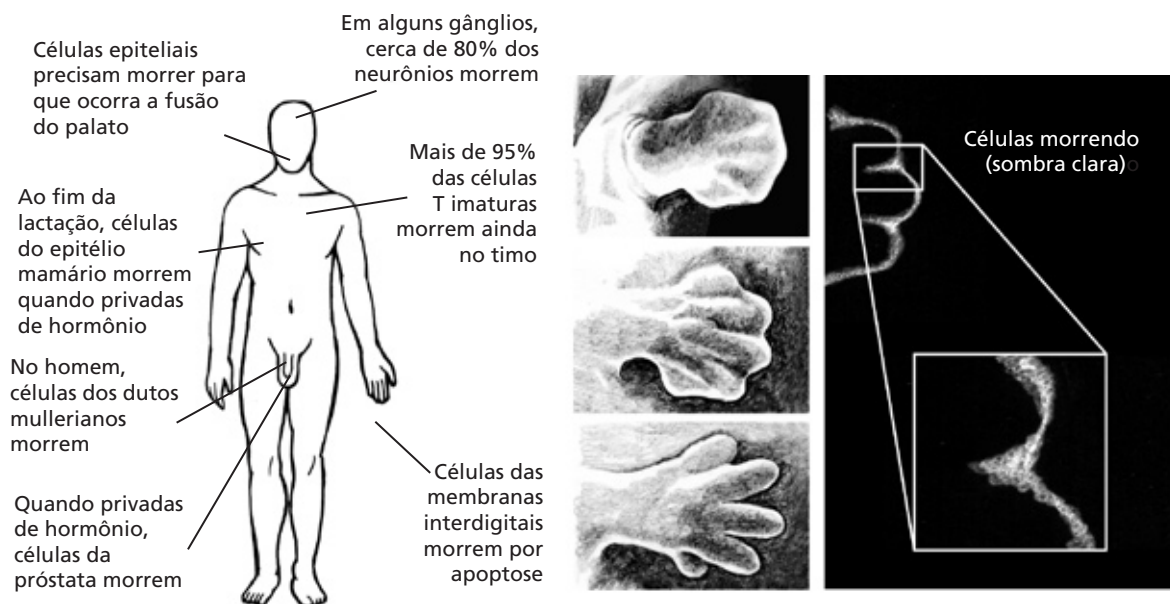


Figura 13.11: Tipos de células que podem sofrer processos de morte celular programada (à esquerda). Ao centro, micrografias eletrônicas de varredura da formação dos dedos em uma pata de camundongo. À direita, microscopia de fluorescência marcando as células apoptóticas.

OUTROS TIPOS DE MORTE CELULAR PROGRAMADA

Como já dissemos, a apoptose é apenas um dos diversos tipos de morte celular programada existentes. Ela possui características moleculares e morfológicas típicas, assim como os outros tipos de morte celular programada existentes. E que tipos são estes? A paraptose é uma forma de morte celular já observada em *Dyctiostelium*, uma ameba de vida livre, na qual ocorre pouca condensação de cromatina e um elevado grau de vacuolização. Um outro tipo é a morte celular negra, que é um mecanismo caspase independente caracterizado por uma profunda condensação citoplasmática e por ondulações de membrana. Na doença de Huntington, uma anomalia de natureza hereditária que afeta o sistema nervoso, a degeneração neuronal segue esta via. A autofagia é um mecanismo de morte celular programada caspase independente, caracterizado pela presença de grandes vacúolos derivados dos lisossomos. Neste caso não ocorre condensação de cromatina. Diversos outros mecanismos de morte celular programada estão sendo descritos na literatura, e o conhecimento vai crescendo de maneira galopante!

CONCLUSÃO: MORTE CELULAR É VIDA!

Para terminar, queremos deixar a idéia de que morte celular programada não é um evento accidental que significa um problema para o organismo. Na verdade, os mecanismos de morte celular programada são muito bem regulados, o que pode ser uma excelente estrutura defensiva contra outros organismos (vírus, parasitas), além de ter função vital na criação dos organismos (no desenvolvimento embrionário), em diversas doenças (como o mal de Alzheimer) e no envelhecimento.

RESUMO

- A morte celular programada é um processo organizado e orquestrado pelo próprio genoma da célula que geralmente ocorre em resposta a fatores ambientais ou a danos fisiológicos detectados pela célula.
- A morte celular programada é um processo que difere da morte por necrose por não envolver extravasamento do conteúdo citoplasmático e não desencadear uma resposta inflamatória local.
- Na seqüência de eventos da morte celular por apoptose, a célula inicialmente murcha. A forma da célula muda e ela perde suas microvilosidades, se as tiver, e as junções intercelulares se desfazem. A superfície da célula parece estar borbulhando. A cromatina se condensa na periferia do envoltório nuclear. A célula termina por fragmentar-se em corpos apoptóticos.
- Os corpos apoptóticos são totalmente selados por membrana, e seu interior contém fragmentos das organelas e do núcleo, onde a cromatina também se fragmenta. O fosfolípídeo fosfatidilserina é exposto no folheto externo da membrana dos corpos apoptóticos. A exposição de fosfatidilserina é um dos sinais para que estes corpos apoptóticos sejam fagocitados pelos macrófagos.
- A morte celular por apoptose pode ser disparada por um estímulo externo, via receptor Fas, ou por um estímulo interno, como as moléculas Bax e Bid que inativam a proteína Bcl-2 na mitocôndria e causam o extravasamento para o citoplasma do citocromo c. A via externa e a via interna estão conectadas.

- As enzimas efetoras do fenótipo apoptótico pertencem à família das caspases.
- A renovação dos epitélios, o desaparecimento da cauda dos girinos, a morte de neurônios que não se conectam corretamente e a eliminação de células contaminadas por vírus ocorrem por apoptose.
- Outros tipos de morte celular programada são a autofagia, a paraptose e a morte celular negra.

EXERCÍCIOS

1. Defina morte celular programada.

2. Qual(is) seria(m) a(s) função(ões) primordial(ais) da morte celular programada?

3. Diferencie apoptose de necrose.

4. Quais são as etapas primordiais da biologia molecular da apoptose?

5. Qual é o papel das caspases?

6. Quais são as duas possíveis vias de apoptose?

7. Qual é a diferença entre estas duas vias possíveis de apoptose?

8. Qual é a importância das proteínas adaptadoras nas vias de apoptose?

9. Comente a importância fisiológica dos mecanismos de morte celular programada.

10. Apoptose e morte celular programada são a mesma coisa?

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Nesta aula você viu o quanto é importante para o organismo a morte programada de suas células. A célula cancerosa, assunto da próxima aula, é um tipo celular que ignora as vias de morte celular programada. As consequências disso, você bem sabe, são desastrosas.

A célula cancerosa

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- caracterizar o que é uma célula cancerosa;
- descrever as vias de transformação de uma célula normal em cancerosa;
- descrever as etapas de crescimento e disseminação de tumores primários.

INTRODUÇÃO

Uma célula normal, seja a de uma ameba, seja de um mamífero ou de um vegetal, cumpre um ciclo de vida – o ciclo celular, que estudamos na Aula 1 desta disciplina. O ciclo celular, conforme estudamos, se inicia ao final de uma divisão, quando têm origem as células-filhas. Estas células podem ingressar num novo ciclo de divisão, passando pelas fases G_1 , S e G_2 , chegando a uma nova fase M ou não. Mais adiante, na aula sobre células-tronco (Aula 12) vimos que estas células conservam o potencial de se dividir, mas permanecem quiescentes (“dormentes”) num estágio chamado G_0 por tempo indefinido, constituindo uma reserva para substituição e reparação de todos ou quase todos os tipos celulares. A divisão sucessiva das células derivadas de uma célula-tronco é acompanhada de processos de diferenciação, dando origem a diferentes tipos celulares. Assim, tanto o fibroblasto que secreta colágeno e outras proteínas da matriz extracelular (Aulas 7 e 8) quanto o neurônio (Aula 10) atuam como instrumentos de uma mesma orquestra: todos possuem a mesma partitura (o código genético), mas executam apenas notas específicas.

Para que o concerto seja harmonioso, é preciso que os violinos não sejam abafados pelo rufar dos tambores e que cada músico faça sua entrada no momento certo. Na falta de um maestro – os mecanismos de sinalização intercelular – o que seria uma melodia agradável se torna um caos sonoro. Podemos estender esta analogia musical ao câncer. A célula cancerosa abandona a partitura e inicia um solo interminável durante o qual cresce e se divide compulsivamente, sem levar em conta nem sua programação inicial nem as demais células do organismo, das quais rouba espaço e nutrientes. O que conduz uma célula a este estado? O que é o câncer? Como uma célula se torna cancerosa? Estas e outras perguntas já foram feitas inúmeras vezes por todos nós. Muito se avançou no conhecimento e tratamento dos diversos tipos de câncer, assim como no conhecimento da biologia da célula cancerosa. Entretanto, a humanidade ainda tem uma longa jornada até que seja possível o total controle dessas enfermidades.

O QUE É O CÂNCER?

Num organismo saudável, cada célula se encontra comprometida com o bem-estar geral do indivíduo e a proteção das células germinais, a fim de garantir a progênie. Afinal, o tempo de vida de um indivíduo é extremamente limitado e, após a sua morte, apenas o código genético

transferido à sua prole sobreviverá. Vimos nas Aulas 12 e 13 que vários tipos celulares – sendo as células sangüíneas um ótimo exemplo disso – se renovam durante toda a vida do indivíduo, morrendo e sendo substituídos por outras, resultantes da divisão e diferenciação de células-tronco. Em termos simples, podemos dizer que a célula cancerosa não apenas “esquece” de morrer, como também “entra numa” de se dividir alucinadamente, num comportamento egoísta que leva o organismo a uma quebra de homeostase e falência de recursos generalizada, resultando na sua morte.

HÁ MAIS DE UM TIPO DE CÂNCER?

Sim, o que chamamos câncer é, na verdade, um conjunto de doenças de origem e evolução diversas. As células cancerosas, por sua vez, compartilham duas características básicas: multiplicam-se indefinidamente e terminam por invadir e colonizar outros tecidos.

A proliferação inicial de uma célula anormal gera uma **neoplasia** (neo = novo, plasia = formação). A massa de células inicial pode permanecer encapsulada por fibras do tecido conjuntivo e, neste caso, forma-se um tumor benigno que pode, em geral, ser removido cirurgicamente sem futuros transtornos para o indivíduo (**Figura 14.1.a**). Caso as células se dispersem por entre as células normais, o tumor é dito maligno e o prognóstico quanto à sua remoção e cura é relativamente incerto (**Figura 14.1.b**). Se estas células se disseminarem pela corrente sangüínea e formarem colônias em outros locais, estas serão chamadas metástases. Esta condição agrava bastante a condição do paciente e dificulta muito a cura.

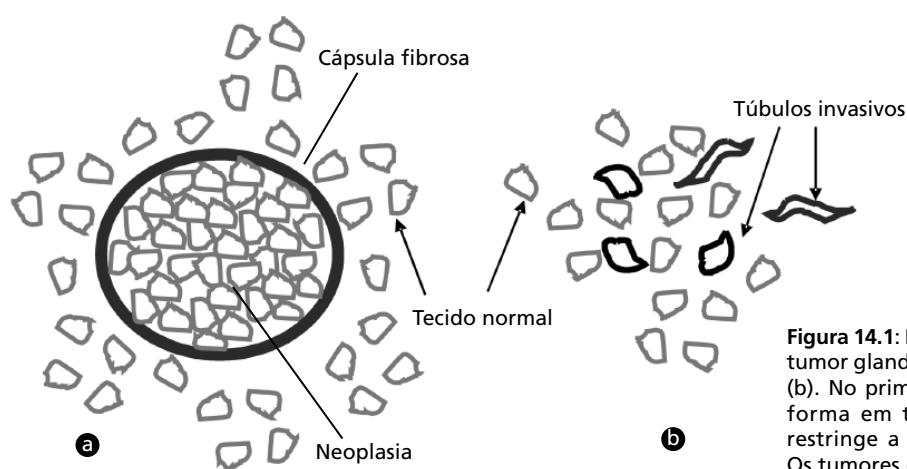


Figura 14.1: Diferenças estruturais entre um tumor glandular benigno (a) e um maligno (b). No primeiro, a cápsula fibrosa que se forma em torno das células cancerosas restringe a invasão do tecido adjacente. Os tumores de mama possuem uma dessas duas conformações.

Na **Tabela 14.1** compilamos um glossário de termos comumente usados na definição de tumores, tanto benignos quanto malignos, de acordo com o tipo de tecido e tipo celular a partir do qual se originaram.

Tabela 14.1: Glossário de termos usados na caracterização de tumores.

Designação técnica do tumor	Origem e características do tumor
Carcinoma	Tumor originado de células epiteliais
Sarcoma	Tumor originado de células musculares ou do tecido conjuntivo
Leucemias	Cânceres de tecidos hematopoiéticos (sangue) ou tecido nervoso
Adenoma	Tumor benigno do tecido epitelial glandular
Adenocarcinoma	Tumor maligno do tecido epitelial glandular
Condroma	Tumor benigno do tecido cartilaginoso
Condrossarcoma	Tumor maligno do tecido cartilaginoso

As células cancerosas conservam algumas características da célula normal de onde se originaram. Assim é que no *carcinoma baso-celular*, um tipo bastante comum e pouco agressivo de câncer de pele, as células continuam a produzir filamentos intermediários de queratina, e no *melanoma*, um tipo de câncer bastante agressivo, as células seguem produzindo o pigmento melanina, característico de sua célula precursora.

O QUE TORNA UMA CÉLULA CANCEROSA?

Calcula-se que a célula-ovo que resulta da fecundação de um óvulo por um espermatozóide divide-se 10^{16} vezes ao longo de nossa vida. Já tendo estudado a divisão celular na Aula 2 desta disciplina, você também sabe que, apesar dos mecanismos de checagem e de reparo, podem ocorrer erros na replicação do DNA e na divisão deste entre as células-filhas. Esses erros são as *mutações*. Ora, em 10^{16} vezes, é admissível que ocorram erros, e eles de fato ocorrem, só que na imensa maioria das vezes o resultado dessas mutações são células não viáveis, que não apenas não mais se dividirão como morrerão e serão eliminadas. As células cancerosas possuem um alto grau de instabilidade genética, o que significa dizer que são muito suscetíveis a sofrer e acumular mutações. Essa instabilidade genética ocorre em raros casos por predisposição genética, como num tipo de tumor que afeta as células da retina – o retinoblastoma – ou, mais comumente, por exposição repetida a fatores indutores, como as substâncias contidas no tabaco

dos cigarros ou radiações ionizantes, como os raios-X. Eventualmente, um destes mutantes possui as características necessárias para iniciar uma linhagem tumoral. Isto significa dizer que, comparado à frequência com que ocorrem mutações nas nossas células, o câncer é uma decorrência rara. Por outro lado, fatores como o cigarro, o álcool e outras drogas aumentam muito a probabilidade de isto ocorrer. Um outro dado a ser levado em conta é que, por depender do acúmulo de mutações ao longo do tempo, as chances de uma pessoa desenvolver algum tipo de câncer aumentam com a idade.

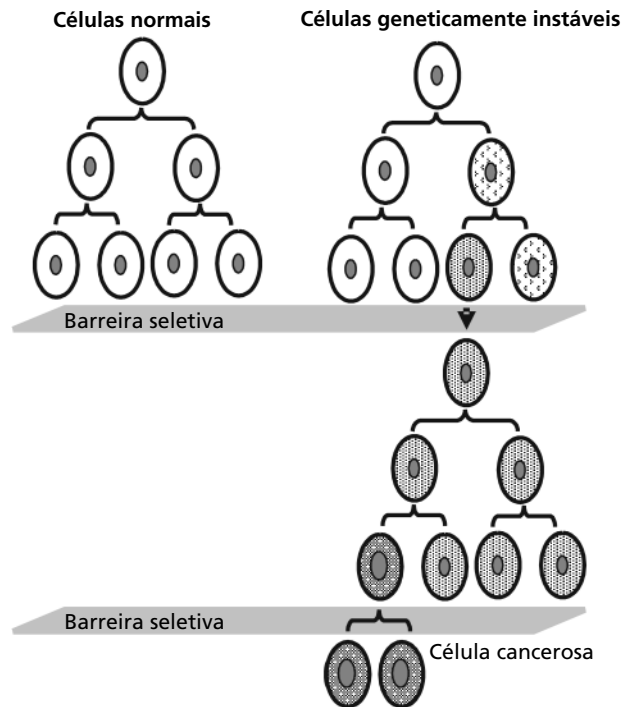
Outro ponto a ser enfatizado é que, se várias células sofrem mutações e apenas uma dá origem ao tumor, isso equivale a dizer que:

- todo tumor é um clone;
- cada tumor foi submetido a condições seletivas que o levaram a sobressair-se sobre os demais, numa versão da lei da sobrevivência do mais apto que subverte e contraria a teoria da seleção natural de Darwin, uma vez que leva o indivíduo à morte;
- cada clone acumula mutações que foram sendo acrescidas ao longo de gerações de multiplicação de uma célula que era apenas ligeiramente modificada.

Na Aula 4 de Biologia Celular I fizemos referência a linhagens celulares de células tumorais. De fato, determinadas linhagens utilizadas em laboratórios no mundo todo são derivadas de tumores humanos. Um exemplo disso são as células HeLa e as CACO₂. A primeira foi isolada de uma paciente com câncer cervical e a segunda de um tumor de cólon. Ao contrário de culturas primárias de células normais, que só sobrevivem em cultura por um número limitado de gerações, estas células são virtualmente imortais.

Que condições seletivas seriam estas? Para possuir alguma vantagem sobre as demais, não basta que as células mutantes se dividam continuamente. Elas precisam ter alguma outra característica que as favoreça em determinadas circunstâncias. Por exemplo, se estas células forem mais capazes de suportar baixas concentrações de oxigênio que as demais e o organismo for submetido a condições de restrição de oxigênio, elas sobressairão não apenas com relação a outros mutantes eventuais, mas também com relação às células normais, assegurando a manutenção e a propagação do genótipo alterado e a possibilidade de incorporação de novas mutações (Figura 14.2).

Figura 14.2: Células dotadas de instabilidade genética podem, no correr de ciclos de divisão, gerar mutantes que, sob determinadas condições, são mais viáveis que as células normais. A exposição dessas células a sucessivas barreiras funciona como um filtro para que essas mutações se acumulem e resultem na célula cancerosa.



Que tipo de mutação ocorre numa célula cancerosa?

As mutações que afetam o DNA das células tornando-as cancerosas são de diversos tipos, mesmo para um mesmo tipo de câncer. Entretanto, em um tipo de leucemia, a leucemia mielogênica crônica, sempre é observada a translocação de um pedaço do cromossomo 22 para o cromossomo 9. Existem diferenças com relação ao tamanho do fragmento translocado entre pacientes, mas o padrão se repete em todos os indivíduos, e o cromossomo 9 anormalmente alongado é chamado cromossomo Filadélfia, em referência ao local onde foi feita esta descoberta.

QUE TIPO DE MUTAÇÃO OCORREU NUMA CÉLULA CANCEROSA?

No início desta aula, comentamos que a célula cancerosa subverte a sua programação natural de divisão e morte. Também já sabemos que não basta uma mutação para que o câncer se desenvolva, os erros precisam se acumular ao longo de várias gerações de replicação.

Já foram identificados mais de 100 genes cuja mutação conduz ao câncer: são os *genes críticos*, e podem ser agrupados em dois grupos: aqueles cuja supressão (“desligamento”) leva ao câncer e aqueles cuja superexpressão leva ao câncer.

Os primeiros são chamados *genes supressores de tumor*. Sua inatividade predispõe a célula a tornar-se cancerosa.

Os do segundo grupo são chamados *proto-oncogenes*, quando seu comportamento é normal, e *oncogenes* quando assumem a forma hiperativa.

O primeiro oncogene a ser identificado foi o da proteína *Ras*, uma GTPase monomérica que participa na transdução de sinal de fatores de crescimento presentes na superfície da célula (que você viu em Aula de Biologia Celular I). A hiperatividade dessa proteína causa proliferação excessiva da célula, uma das características básicas da célula cancerosa.

Já a descoberta do primeiro gene supressor de tumor foi feita ao estudar-se um tipo raro de câncer humano de natureza hereditária, o *retinoblastoma*. Este tipo de tumor se desenvolve em células da retina ainda em desenvolvimento e provoca cegueira ainda na infância. Descobriu-se que os portadores de retinoblastoma possuem uma deleção no cromossomo 14 e que nessa região se localiza normalmente o gene *Rb*, ausente nesses indivíduos. Mais ainda, este gene se encontra mutado em portadores de vários outros tipos de câncer, como mama, pulmão e bexiga. Qual a função do gene *Rb*? Esse gene codifica a proteína Rb, que é uma reguladora do ciclo celular em todos os tipos celulares, atuando como um “freio” do ciclo celular. Sem ela, novamente, as células passam a se dividir descontroladamente, gerando tumores.

Estes são apenas dois exemplos de mutações associadas ao câncer. Em outros casos, múltiplas cópias de um determinado gene podem ser produzidas, amplificando seu efeito e provocando a superexpressão da proteína codificada por ele.

COMO PODE SOBREVIVER UMA CÉLULA COM ALTERAÇÕES NO DNA?

Estudamos na Aula 13 os mecanismos de morte celular programada, responsáveis por manter estável o número de células de um organismo adulto, eliminando aquelas que entram na fase de senescência, entre outras funções. Outra característica básica da célula cancerosa é a sua imortalidade, ou seja, ela ignora as restrições naturais de divisão e sobrevivência das células normais. Acredita-se que o gene mais importante na manutenção da normalidade celular seja aquele que codifica para a *proteína P53*. Esta proteína se encontra mutada em pelo menos metade

dos tipos de câncer conhecidos e possui pelo menos três importantes funções: no controle do ciclo celular, na apoptose e na manutenção da estabilidade genética. Em condições normais, a quantidade de P53 produzida é muito pequena, mas em condições em que a integridade do DNA seja rompida, como no caso de exposição a raios ultravioleta, sua síntese é aumentada e ela tenta, inicialmente, reparar o DNA. Quando isso não é possível, a P53 atua ativando o mecanismo de autodestruição celular por apoptose. Conseqüentemente, células deficientes em P53 são incapazes tanto de reparar o DNA quanto de morrer, proliferando sem controle. Em muitos tipos de tumor são detectadas grandes quantidades de uma forma mutada e, portanto, inativa dessa proteína.

COMO SE FORMAM AS METÁSTASES?

As células cancerosas possuem seis habilidades diabólicas, algumas das quais acabamos de comentar:

1. as células cancerosas continuam a se dividir independentemente do recebimento de qualquer sinal, tal como uma lesão nas células vizinhas;
2. ao serem comprimidas pelo tumor em crescimento, as células normais enviam sinais para interromper a divisão das células cancerosas, mas estas os ignoram, assim como ignoram os sinais de seu próprio processo de envelhecimento;
3. todas as células cancerosas possuem alterações importantes em seu DNA que inibem os processos de morte celular programada e escapam ao sistema imune;
4. à medida que se multiplicam, as células cancerosas são capazes de estimular a formação de vasos sanguíneos em suas proximidades, o que lhes garante o aporte de oxigênio e nutrientes;
5. as células cancerosas são imortais. Uma célula normal divide-se, no máximo, umas 70 vezes. Uma célula cancerosa divide-se indefinidamente;
6. as células cancerosas adquirem a capacidade de invadir outros tecidos e órgãos, disseminando-se na forma de tumores metastáticos. Esta última propriedade é a responsável final pela letalidade do câncer.

O processo de metástase não é simples; para disseminar-se, uma célula cancerosa de origem epitelial tem de transpor várias barreiras:

- desfazer contatos juncionais com outras células;
- atravessar a lâmina basal;
- ser aspirada pelo sistema linfático ou cair na corrente sanguínea;
- passar pelo endotélio em um ponto distante do tumor primário

(no fígado, por exemplo) e ali formar nova colônia.

Este processo requer habilidades especiais que nem toda célula tumoral possui; assim, apenas uma em cada 1.000 células que se despreendem do tumor primário formarão metástases. Um outro fato interessante é que é muito comum que as células sejam aspiradas pelo sistema linfático, vindo a “encalhar” em um gânglio e ali originem um novo tumor.

O QUE INDUZ À FORMAÇÃO DE UM CÂNCER?

Já temos em mente que uma só alteração no DNA não causa câncer. São necessárias *várias mutações* cumulativas em sequência capazes de causar uma desregulação no mecanismo de crescimento e multiplicação. Observamos que o câncer ocorre mais frequentemente em pessoas idosas. A partir dos 55 anos, a incidência da doença cresce em nível exponencial. Isso quer dizer que quanto mais tempo uma pessoa tem para expor seu material genético a um fator qualquer que possa alterá-lo, maior será a chance disso acontecer. Se vivêssemos até 200 anos, todos provavelmente teríamos algum tipo de câncer. Isso porque passou tempo suficiente para que se acumulassem mutações genéticas em nossas células.

Aos elementos lesivos capazes de acarretar um aumento na probabilidade de ocorrência de lesões no DNA, e, portanto, de aumento da incidência de neoplasias, é dado o nome de *carcinógenos*. Podem ser agentes químicos, alguns vírus e diversos tipos de radiação, como os raios ultravioleta e os raios gama. A exposição prolongada ou repetida a esses agentes pode, após um certo tempo, resultar num câncer. Os fumantes, por exemplo, só costumam ter tumores diagnosticados após 10 ou 20 anos de tabagismo. Da mesma forma, os tumores de pele,

ou melanomas, podem surgir depois de décadas de exposição aos raios solares. Num caso histórico, os sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki desenvolveram diversos tipos de tumor alguns anos após o lançamento das bombas atômicas sobre aquelas cidades.

Os agentes químicos incluem substâncias notoriamente tóxicas, como o gás mostarda e a aflatoxina. Entretanto, a inflamação crônica de algum órgão, como o intestino, por exemplo, provoca aumento da divisão celular, aumentando a chance de alguma mutação. Dessa forma, gorduras animais (que causam um tipo de inflamação na mucosa intestinal) são carcinógenos “indiretos”. É por essa razão que se recomenda uma dieta rica em fibras. Elas aumentam o volume do bolo fecal, diminuindo o tempo de exposição de todas as substâncias à mucosa intestinal, além de diminuir a concentração da gordura animal na massa fecal total.

A ação de hormônios é semelhante. Eles aceleram a divisão celular de alguns tipos de células, facilitando a ocorrência de mutações. Por este motivo, as terapias de reposição hormonal para mulheres na menopausa ainda são tema de muitos debates e pesquisas.

O fumo, por sua vez, desenvolve uma ação carcinogênica mista. Ele é capaz tanto de lesar o DNA das células do corpo inteiro, diretamente, quanto irritar mucosas, causando inflamação crônica na boca, na garganta, nos brônquios e nos pulmões. É por isso que o fumo pode causar também câncer de bexiga e pâncreas, por exemplo, não ficando limitado apenas às vias aéreas.

Outras situações em que pode ocorrer lesão direta do DNA é quando ocorre invasão celular por vírus. Como exemplo mais evidente temos o vírus das hepatites B e C, que a longo prazo podem causar câncer hepático. Também há a associação do papilomavírus (HPV) com o câncer de colo de útero. As alterações específicas provocadas no DNA por esses tipos de vírus ainda não estão bem determinadas. O que se sabe é que pode haver uma completa integração do genoma do vírus ao genoma (DNA) da célula hospedeira, sendo que esta célula dará origem à oncogênese.

O CÂNCER PODE SER TRATADO HOJE?

Sim, em muitos casos. O resultado do tratamento contra o câncer varia de acordo com cada paciente. Os tratamentos em uso atualmente incluem:

- **Cirurgia:** em geral é o tratamento mais importante e mais definitivo, quando o tumor está localizado em local anatomicamente favorável. Para muitos tipos de câncer, no entanto, apenas a cirurgia não é suficiente, devido à disseminação de células cancerosas local ou difusamente.

- **Radioterapia:** é utilizada para tumores localizados que não podem ser ressecados totalmente ou para tumores que costumam recidivar localmente após a cirurgia. O objetivo da radioterapia é lesar extensamente o DNA das células cancerosas, inviabilizando sua divisão e sobrevivência.

- **Quimioterapia:** consiste na utilização de medicamentos que têm ação citotóxica (causam danos às células). São utilizadas combinações de vários medicamentos diferentes, pois nos tumores há frequentemente subpopulações de células com sensibilidade diferente às drogas antineoplásicas. Os mecanismos de ação das drogas são diferentes, mas em geral acabam em lesão do DNA celular. Algumas das drogas utilizadas, como o taxol e a colchicina, interferem com a integridade dos microtúbulos, essenciais na formação do fuso mitótico.

- **Terapia biológica:** usam-se modificadores da resposta biológica do próprio organismo frente ao câncer, “ajudando-o” a combater a doença (linfoquinas, anticorpos monoclonais). Pode-se usar também drogas que melhoram a diferenciação das células tumorais, tornando-as de mais fácil controle.

COMO SERÃO OS TRATAMENTOS NO FUTURO?

Há grande esperança de que as pesquisas em Biologia Celular abram novas perspectivas para tratamento de câncer, assim como outras doenças. A terapia celular, utilizando células-tronco (Aula 12), é uma dessas possibilidades, especialmente para o tratamento de leucemias. Além dessas, estão sendo pesquisadas e testadas terapias baseadas em:

- **Imunoterapia:** o tratamento imunoterápico do câncer se baseia na ativação do sistema imune contra a célula maligna. Ela produz alguns tipos de proteínas que passariam a ser reconhecidas pelas células de

defesa do organismo. Haveria então a destruição das células do tumor. Estuda-se também a produção de **vacinas**, a partir de antígenos específicos da célula tumoral, com o fim de estimular o próprio sistema imune do paciente a destruir as células cancerosas.

Já está em uso uma vacina contra o vírus HPV, indutor do câncer de colo de útero. Esta vacina é preventiva, devendo ser aplicada em mulheres que ainda não se contaminaram com o HPV.

Terapia molecular: estudam-se mecanismos de normalização da produção e da ativação da *proteína p53*, a fim de corrigir erros no DNA celular e, na impossibilidade disso, induzir a célula à apoptose. Também estão sendo pesquisados os inibidores da *telomerase*, a enzima que impede que os telômeros da célula tumoral encurtem (Aula 12), o que é um sinal de envelhecimento celular.

Antiangiogênese: à medida que o tumor cresce, estimula a formação de novos vasos sanguíneos. A inibição desse processo leva as células tumorais à morte por falta de nutrientes, pois bloqueariam a produção de vasos sanguíneos, essenciais para levar o sangue com os nutrientes ao tumor. Drogas com esse efeito já estão sendo utilizadas no tratamento de tumores sólidos.

RESUMO

No tumor benigno, as células permanecem juntas formando uma massa única; ali se pode obter a cura completa através de remoção cirúrgica. Um tumor só é considerado um câncer se for maligno, ou seja, são células que adquiriram a capacidade de invadir e colonizar tecidos vizinhos – processo denominado metástase.

Muitos tipos de câncer são originados de uma única célula que sofreu mutação; contudo, a progênie dessa célula necessita de mutações futuras, requerendo numerosas mutações adicionais para iniciar um câncer.

O fenômeno de progressão de um tumor requer muitos anos, demonstrando o processo de evolução por mutação e seleção natural através das células somáticas.

As principais alterações das células cancerosas incluem diminuição da expressão de proteínas adesivas da matriz extracelular (MEC), como a fibronectina e a

laminina; aumento na expressão de proteínas da MEC antiadesivas como tenascina e trombospondina; diminuição da expressão de caderinas; síntese de collagenase, que degrada o colágeno e liberação de fatores angiogênicos.

As modalidades terapêuticas mais utilizadas atualmente são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapia biológica.

A imunoterapia, os alvos moleculares da terapia do câncer e estudos de antiangiogênese são técnicas em estudo para tratamento do câncer no futuro.

SITES RECOMENDADOS

http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=469

<http://www.orientacoesmedicas.com.br/oqueepapanicolau.asp>

Biologia Celular II

Gaboarito

1. O ciclo celular compreende o período da vida celular correspondente à intérfase, subdividida em G1, S e G2, e a fase de divisão, denominada M.
2. São moléculas responsáveis pelo controle interno do ciclo celular. As ciclinas vão progressivamente se acumulando no citoplasma, ligando-se às ciclinas, e quando atingem uma determinada concentração, disparam uma atividade (por exemplo, separação das cromátides).
3. São as quinases dependentes de ciclinas. As Cdks estão presentes em quantidades constantes por todo o ciclo e entram em atividade quando ligadas às ciclinas específicas.
4. É a sigla para Fator Promotor de Mitose. É o complexo formado pela M-Cdk e a M-ciclina e dispara a mitose, fosforilando várias proteínas, dentre elas as que compactam os cromossomos, as que desmontam o envoltório nuclear e as que levam os microtúbulos a formar o fuso mitótico.
5. No final de cada fase do ciclo, as ciclinas são degradadas em proteassomas.
6. É feito pela disponibilidade de nutrientes, de espaço e de fatores de crescimento.
7. Em conjunto, os controles interno e externo formam os pontos de checagem: no final de G1, a célula precisa ter o volume suficiente e o ambiente favorável para entrar em S. No final de G2, além do ambiente e volume favoráveis, é preciso que o genoma esteja correta e completamente duplicado. Na metáfase, os cromossomos precisam estar todos alinhados para que a divisão prossiga.
8. Algumas células, como neurônios e músculos, escapam do ciclo celular em G1 e permanecem num estado de quiescência chamado G0, a partir do qual podem até voltar ao ciclo em algum momento. Hepatócitos costumam se dividir a cada um ou dois anos, mas outras células podem permanecer em G0 para sempre.

1. Associar a mitose à distribuição do material genético entre as células-filhas.

2. Prófase

Prometáfase

Metáfase

Anáfase

Telófase

} citocinese

3. Em que etapa do ciclo celular ocorre:

a) Intérfase.

b) Prófase e prometáfase.

c) Prófase.

d) Prometáfase.

e) Prometáfase.

f) Metáfase.

g) Anáfase.

h) Desaparece na prófase e reaparece na telófase.

4. Coesina: manter unidas as cromátides-irmãs.

Condensina: auxiliar a condensação dos cromossomos.

Separase: cortar a ligação das cromátides-irmãs na anáfase.

5. Existem microtúbulos astrais, que ajudam na manutenção dos centrosomos nos pólos opostos da célula; microtúbulos cinetocoriais, que se ligam ao cinetócoro dos cromossomos; microtúbulos interpenetrantes, que deslizam uns em relação aos outros afastando as cromátides-irmãs.

6. É o estrangulamento que separa as células-filhas; depende da formação de um anel de actina no sentido transversal ao fuso.

1. São várias: a separação entre a transcrição e a tradução, proporcionando maior diversidade de informação nos eucariotos pela sobreposição de informações de um mesmo segmento do DNA na composição de diversos produtos gênicos, proteção do DNA.
2. Corresponde à Figura 3.5.
3. Conseguir acomodar de modo organizado dentro do núcleo moléculas que não caberiam lá de outra maneira.
4. É o arranjo formado pelas histonas H2A, H2B, H3 e H4 que com duas cópias de cada formam um octâmero ao redor do qual a dupla fita do DNA dá uma volta e meia aproximadamente.
5. É o DNA que fica entre dois nucleossomos.
6. É manter os nucleossomos mais ou menos afastados, influenciando na compactação do DNA.
7. A eucromatina é o estado em que o DNA está descompactado e transcrevendo. A heterocromatina corresponde ao DNA no seu estado mais compactado, inacessível às enzimas de transcrição.
8. Corresponde aos telômeros dos cromossomos interfásicos, uma evidência de que os cromossomos interfásicos não ficam "embolados".
9. O nucléolo é a região onde são sintetizados e montados os ribossomos; a densidade dele se deve justo ao acúmulo de moléculas que ali estão sendo produzidas. Portanto, o nucléolo não é heterocromatina.
10. Não, essas regiões se distribuem por vários cromossomos. Os segmentos envolvidos na síntese de ribossomos se aproximam na região que corresponde ao nucléolo, como mostra a Figura 3.15.

1. Membrana nuclear externa, espaço perinuclear, membrana nuclear interna, lâmina nuclear, cromatina aderida e complexos do poro.
2. A membrana nuclear externa é um domínio do retículo endoplasmático rugoso.
3. Apesar de ser contínua com a membrana nuclear externa, os componentes da membrana interna não podem fluir para a membrana externa. Por isso, a composição da membrana interna é particular. Suas moléculas mais conhecidas são receptores para laminas do tipo B e receptores que controlam a liberação de cálcio.
4. É uma camada de filamentos intermediários entrecruzados, formada pelas laminas do tipo A e do tipo B. A função da lâmina é sustentar o envoltório nuclear, regular sua forma e protegê-lo de deformações.
5. São perfurações que trespassam as duas membranas nucleares, mantidas por uma estrutura complexa formada por cerca de 30 proteínas diferentes.
6. É uma seqüência de aminoácidos necessária e suficiente para que uma proteína seja reconhecida no complexo do poro e translocada para o núcleo.
7. Pelos complexos do poro.
8. Pelos mesmos complexos do poro por onde proteínas podem entrar.
9. Porque tem direção e sentido definidos: proteínas só entram e mRNA só sai.
10. Sim. A energia é fornecida pela hidrólise de GTP por GTPases monoméricas especiais, as Ran.

1. Através de junções ou células esparsas numa matriz conjuntiva.

2. Junções de oclusão - selar compartimentos.

Junções de adesão - manter células aderidas entre si e ao substrato, conferindo ao conjunto resistência a tensões.

Junções de comunicação - comunicação e cooperação metabólica entre células.

3. Junção tight - tight quer dizer apertado, em inglês. O espaço entre as membranas das duas células vizinhas é menor (mais apertado) na região da junção. Cinturão de oclusão - a junção de oclusão forma um cinturão de cerca de 0,5 micrômetros de largura, que circunda toda a porção lateral superior da célula.

4. Porque as proteínas que o formam se organizam em fileiras e se conectam a proteínas de mesma natureza na célula vizinha. Esses arranjos impedem o livre fluxo dessas proteínas no plano da bicamada lipídica e também barram outras proteínas que tentem se deslocar através desses cordões.

5. É uma região da membrana onde são encontradas proteínas e, conseqüentemente, realizadas funções diferentes de outra região onde existam outras proteínas e outras funções. As barreiras mantêm os domínios, impedindo que as proteínas se misturem pela fluidez da membrana.

6. Claudinas, as mais essenciais, e ocludinas.

7. É o transporte que depende da passagem através da membrana plasmática. Pode ser por difusão simples ou transporte através de proteínas.

8. É a passagem de moléculas por entre as células de um epitélio. Ocorre quando o organismo tem de absorver rapidamente grande quantidade de aminoácidos ou açúcares obtidos após a digestão de alimentos.

1. Conferir aos epitélios resistência a tensões. As proteínas constituintes são: proteínas transmembrana da família das caderinas, proteínas intermediárias (desmogleínas e desmoplaquinas) e filamentos intermediários.
2. A malha de microfilamentos em associação com miosinas pode contrair-se e “puxar” a região apical das células, aproximando-as e encurvando sua estrutura até formar um tubo.
3. Os primeiros possuem como proteína transmembrana as caderinas e são uma junção célula-célula. Os hemidesmossomas são uma junção célula-matriz e possuem integrinas como proteínas transmembrana.
4.
 - a) As conexinas.
 - b) Aquelas menores que 1000 daltons
 - c) A elevação do cálcio intracelular provoca o fechamento das junções Gap.
5. As células vegetais são revestidas por uma parede celulósica que as protege das tensões e compressões, além de promover a adesão entre elas, por isso são desnecessárias junções de adesão ou oclusão. Por outro lado, continua havendo necessidade de comunicação e cooperação metabólica, o que é feito pelas plasmodesmatas.

1. Conjuntivos: propriamente dito, sangue, ossos, cartilagem.
2. As próprias células imersas na matriz secretam seus componentes. Essas células são os fibroblastos, no tecido conjuntivo; os osteoblastos, no tecido ósseo; os condroblastos, no cartilaginoso.
3. Polissacarídeos chamados glicosaminoglicanas e proteínas.
4. As proteoglicanas são formadas por numerosas cadeias de glicosaminoglicanas que se dispõem ao longo de um eixo protéico.
5. Nas glicoproteínas, há predomínio da parte protéica com relação à parte sacarídica. As cadeias de açúcares das glicoproteínas também costumam ser curtas quando comparadas às proteoglicanas. Nas proteoglicanas, a parte glicídica pode chegar a ser 95% da molécula.
6. As GAGs e as proteoglicanas são moléculas negativamente carregadas que atraem muitos cátions. Estes, por sua vez, atraem água, tornando a matriz hidratada.
7. As outras funções:
 - 1- Regulação da atividade de moléculas sinalizadoras, ligando-se a várias moléculas e controlando a atividade de proteínas secretadas.
 - 2- Controle do tráfego de células e moléculas. Os géis formados pelas proteoglicanas têm vários tamanhos de poros e cargas, atuando como peneiras moleculares capazes de filtrar moléculas e células de acordo com seu tamanho e carga.
 - 3- Co-receptores. Algumas proteoglicanas são componentes integrais da membrana plasmática podendo servir como receptores propriamente ditos ou como co-receptores ligando-se a moléculas (concentrando-as) e depois apresentando-as para os seus respectivos receptores.
 4. Interação com proteínas fibrosas da matriz. As GAGs e proteoglicanas podem interagir com proteínas da matriz, como o colágeno, formando estruturas altamente complexas.

1. A matriz extracelular possui proteínas fibrosas – os colágenos e a elastina – e proteínas adesivas, a fibronectina e a laminina, esta última na lâmina basal.
2. O colágeno é formado por uma tripla hélice de um polipeptídeo rico em prolina e glicina.
3. Fibrilares, associados a fibrilas e formadores de rede.
4. O colágeno é sintetizado pelas células e secretado na forma de pró-colágeno. Depois de clivada a extremidade da cadeia, formam-se espontaneamente as fibrilas; como isso só acontece no meio externo, as fibrilas só se formam após a secreção.
5. A molécula de elastina é uma hélice assimétrica e frouxa, como um cacho de cabelo. Ao ser puxada, distende-se; ao cessar a distensão, enrola-se de novo. Pontes entre as moléculas de elastina formam as fibras elásticas.
6. O colágeno confere ao tecido resistência à tensão e a elastina confere ao tecido elasticidade, isto é, após sofrer a tensão ele pode se distender e voltar à forma original.
7. A fibronectina é uma proteína dimérica que possui sítios de reconhecimento para várias moléculas: colágeno, integrinas, outras fibronectinas, heparina. É através da ponte formada pela fibronectina que as integrinas da membrana plasmática se ligarão às fibras colágenas.
8. A lâmina basal é um tipo especial de matriz, secretada pelas células que se apóiam sobre ela. As proteínas mais características da membrana basal são o colágeno tipo IV, formador de redes; a laminina, proteína trimérica que se liga a integrinas; e o colágeno do tipo VII, que faz pontes entre a lâmina basal e a matriz abaixo dela.
9. A lâmina basal determina a polaridade celular, influencia o metabolismo celular e organiza proteínas em membranas plasmáticas adjacentes, atuando na migração e na diferenciação celular.

1. A primária é formada por um arranjo mais frouxo de fibrilas de celulose, sem uma orientação definida. A parede secundária se forma por dentro da primária e cada camada de fibrilas de celulose tem uma orientação definida e ortogonal em relação à camada anterior.
2. A parede celular é a matriz da célula vegetal. A lamela média corresponde à membrana basal.
3. Microfibrilas de celulose, pectina, glicanas associadas à celulose.
4. As microfibrilas de celulose.
5. As pectinas e glicanas.
6. A partir de complexos enzimáticos existentes na membrana plasmática.
7. As fibrilas seguem a mesma direção dos microtúbulos subpeliculares da célula.

1. Os neurônios são células excitáveis, responsáveis por receber, conduzir e transmitir estímulos. Por serem muito especializadas e dependerem das conexões que fazem para exercer sua atividade, não se renovam.
2. Alguns microtúbulos se soltam do centrossoma e migram ao longo do axônio, transportando vesículas sinápticas e outras organelas. Os filamentos intermediários dos neurônios, os neurofilamentos, também são diferentes, possuem tabiques, ajudando a manter desobstruído o axônio.
3. As sinapses são os contatos funcionais entre um neurônio e outra célula. As sinapses elétricas só ocorrem entre dois neurônios do sistema nervoso central e correspondem a junções Gap. As sinapses químicas ocorrem tanto no SNC quanto fora dele e dependem da secreção de um neurotransmissor, para o qual há receptores na membrana da célula efetora.
4. É o fato de o citoplasma ser negativo em relação ao meio extracelular. Essa diferença de distribuição de cargas é mantida pela bomba de Na^+/K^+ e, em menor escala, pelos canais vazantes de K^+ .
5. Os canais iônicos, depois de se abrirem, passam por um período refratário, ficando inativos. Isso garante que apenas os canais à frente se abram, propagando o estímulo.
6. É o resultado conjunto da atividade da bomba de Na^+/K^+ , dos canais lentos de K^+ e do período refratário dos canais de Na^+ .
7. As vesículas sinápticas só são exocitadas após a entrada de cálcio no terminal. Isso só acontece pela abertura de canais de Ca^{++} ativados por voltagem existentes na membrana do terminal.

1. As células musculares se originam a partir de mioblastos que se fundem, dando origem a células longas e multinucleadas. O crescimento ocorre pela fusão de mais mioblastos às fibras existentes. O exercício também estimula a síntese de mais fibrilas contráteis, levando ao aumento do diâmetro da fibra muscular.

2. O músculo liso e o estriado cardíaco são uninucleados e involuntários. O músculo cardíaco é formado por células que se encaixam umas nas outras e possuem muitos desmossomas entre si, para garantir a união e junções Gap, para a passagem dos íons que conduzem o estímulo de contração. Os músculos lisos não possuem um arranjo tão regular de actina e miosina, por isso não são estriados. São células alongadas e uninucleadas e sua contração é mais lenta e mais persistente que nos músculos esqueléticos.

3.

a) sarcômero – é a unidade de contração da fibra muscular;

b) sarcolema – corresponde à membrana plasmática da fibra muscular;

c) retículo sarcoplasmático – corresponde ao retículo endoplasmático liso da célula muscular;

d) túbulo T – ou túbulo transverso é uma invaginação do sarcolema no sentido transversal da fibra. Permite que o estímulo (despolarização) chegue rapidamente a todos os pontos da fibra;

e) tríade – é o conjunto formado por um túbulo T e dois elementos do retículo sarcoplasmático adjacentes a este.

4.

a) alfa-actinina – principal proteína formadora do disco Z;

b) Cap Z – proteína do disco Z que protege a extremidade do filamento de actina da despolimerização;

c) tropomodulina – proteína que protege a extremidade plus do filamento de actina da despolimerização;

d) troponina – proteína reguladora dependente de cálcio;

e) tropomiosina – proteína reguladora que encobre o sítio de ligação para miosina no filamento de actina;

f) nebulina – proteína que envolve o filamento de actina;

g) titina – proteína longa e espiralada que liga o disco Z aos feixes de miosina.

5. Porque a actina se dispõe em filamentos em torno de feixes formados por moléculas de miosina do tipo II que se ligam pelas caudas, formando feixes, e não filamentos isolados.

6. A ligação de ATP às cabeças de miosina provoca seu desligamento do filamento de actina.

7. Porque, com a morte, cessa a produção de ATP, e, sem ATP, a miosina que estiver ligada à actina (músculo contraído) assim permanecerá.

Aula 12

1. Ser não diferenciada e possuir capacidade de dividir-se e originar tipos celulares especializados.

2. Sim.

3. É a etapa do desenvolvimento embrionário após a mórula, em que o embrião é envolto por uma camada de células, o trofoectoderma, que dará origem à placenta, e uma massa central de células, os blastômeros, que darão origem ao embrião propriamente dito e aos demais anexos embrionários.

4. Da massa central do blastocisto.

5. Retira-se o núcleo de uma célula somática do animal que vai ser clonado e implanta-se esse núcleo num óvulo enucleado de outro animal. O zigoto assim formado é implantado no útero de uma terceira fêmea.

6. As células do animal gerado assim possuem a mesma idade das células do animal doador do núcleo. Dessa forma, o animal é cronologicamente jovem, mas biologicamente velho.

7. São células que permanecem indiferenciadas no indivíduo, provendo a substituição e a renovação permanente dos tecidos.

8. As células-tronco hematopoiéticas e as estromais ou mesenquimais.

9. Das hematopoiéticas se originam os leucócitos e eritrócitos. As estromais podem dar origem a cardiomiócitos, adipócitos, células da cartilagem e ósseas.

10. As interações que ela fizer, ou deixar de fazer, com moléculas do meio extracelular (por exemplo, a β -integrina da membrana das célula-tronco da pele, que reconhece moléculas da lâmina basal) ou com células vizinhas (como no caso das células hematopoéticas e estromais, que se reconhecem pela proteína notch).
11. Em criptas, invaginações que não se expõem na superfície das vilosidades. As células se diferenciam apenas quando vão chegando à superfície das vilosidades, exceto pelas células de Paneth, que permanecem nas criptas.
12. São as células-satélite, que existem em pequeno número dispersas entre as fibras contráteis.
13. Tratamento de queimados (pele), leucemias e tratamento de enfartados.
14. Tratamento de lesões nervosas, substituição de articulações desgastadas, regeneração funcional do fígado e do pâncreas.

Aula 13

1. A morte celular programada geralmente ocorre em resposta a fatores ambientais ou a danos fisiológicos detectados pela célula. É um tipo de morte silenciosa em que não se observa resposta inflamatória.
2. Na vida embrionária, participar da modelagem do embrião. Findo o desenvolvimento e o crescimento, manter constante o número de células do indivíduo adulto.
3. Na necrose há extravasamento do citoplasma e resposta inflamatória. Na apoptose, a célula se fragmenta em corpos apoptóticos selados por membrana e não há resposta inflamatória.
4. As etapas moleculares da apoptose são as seguintes: estímulo, geração do sinal intracelular, propagação intracelular do sinal, ativação dos efetores (atividade de enzimas – caspases – que iniciam a conversão da célula ao fenótipo apoptótico), clivagem de proteínas celulares pelas caspases e formação e eliminação dos corpos apoptóticos.
5. São enzimas que catalisam a clivagem do DNA, dos filamentos do citoesqueleto e outros eventos relacionados à apoptose.

6. Existem duas vias possíveis de ativação da apoptose. Uma delas, conhecida por via externa, é geralmente fruto de uma interação receptor-ligante. Neste caso particular, as proteínas receptoras da superfície celular são chamadas receptores de morte. Estes receptores de morte ligam-se a moléculas (ligantes) que se encontram na superfície de outras células, e o resultado é a apoptose da célula que os expressa em sua superfície. A outra via, conhecida por via interna, não é ativada por uma interação receptor-ligante. São estímulos internos, certas condições de estresse e dano celular, como aqueles que resultam do efeito de radiações, toxinas e drogas.

7. A diferença entre estas vias está no tipo de moléculas que são ativadas. A via externa ativa moléculas adaptadoras e caspases diferentes da via interna, que possui, por exemplo, o papel essencial da mitocôndria.

8. As proteínas adaptadoras são fundamentais para transformar o estímulo em uma complexa via de ativação enzimática (via das caspases), que leva a célula à morte.

9. Eles são importantes na manutenção do número de células do indivíduo adulto, no processo de desenvolvimento embrionário e na defesa do organismo contra infecções virais.

10. Não, apoptose é um tipo de morte celular programada, mas existem outros.

Serviço gráfico realizado em parceria com a Fundação Santa Cabrini por intermédio do gerenciamento laborativo e educacional da mão-de-obra de apenados do sistema prisional do Estado do Rio de Janeiro.



Maiores informações: www.santacabrini.rj.gov.br

ISBN 85-7648-134-0



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense

uff



UNIRIO



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério
da Educação

