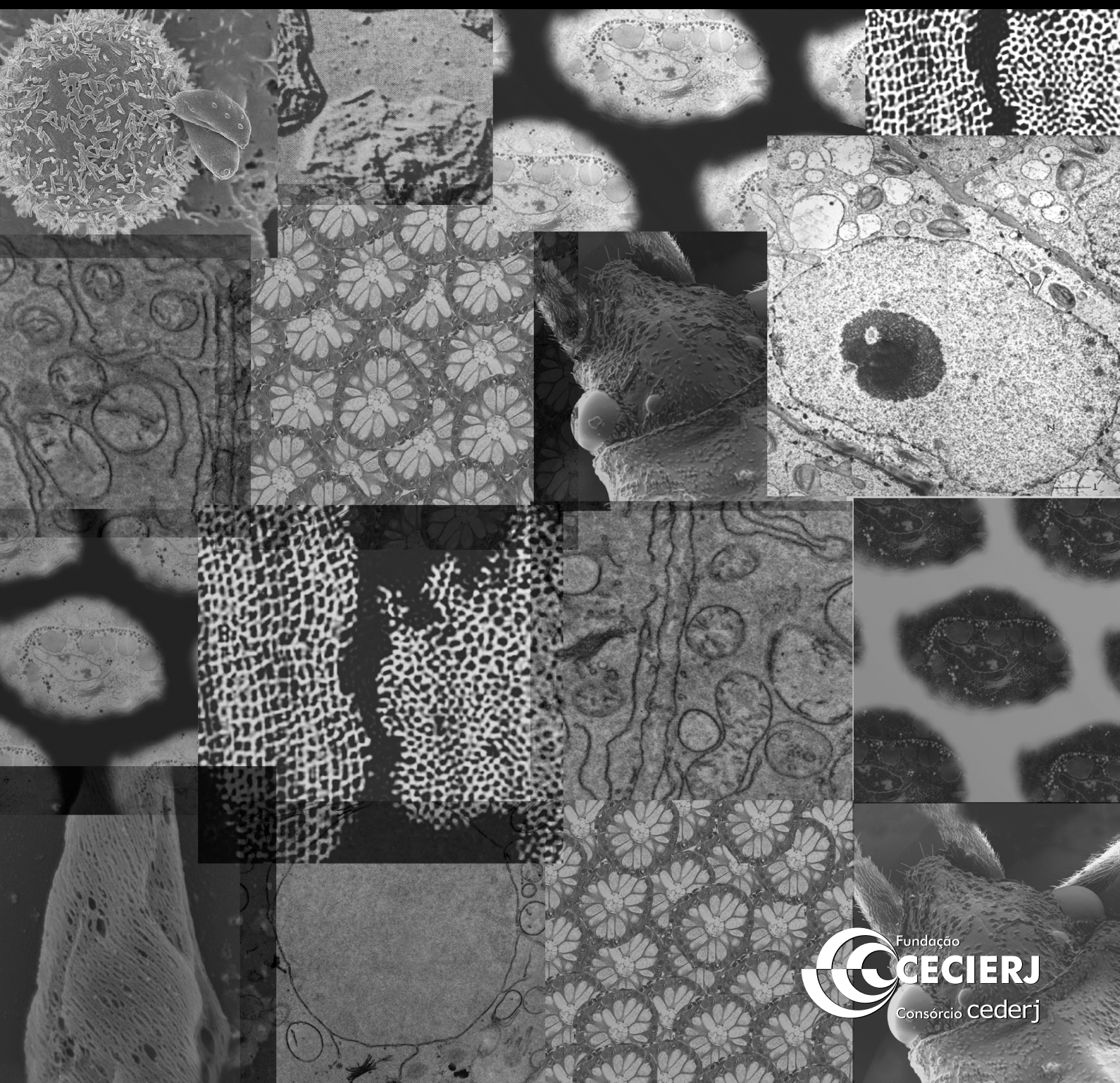


Márcia Attias
Narcisa Cunha e Silva

Biologia Celular I





Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

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

Biologia Celular I

Volume 2 - Módulo 3

Márcia Attias
Narcisa Cunha e Silva



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 - Cibeles Schwanke

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Márcia Attias

Narcisa Cunha e Silva

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves

Ana Tereza de Andrade

Márcio Paschoal

COORDENAÇÃO DE AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Débora Barreiros

REVISÃO TÉCNICA

Marta Abdala

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Carmen Irene Correia de Oliveira

Jane Castellani

Kátia Ferreira dos Santos

Sandra Valéria Oliveira

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Andréa Dias Fiães

Yozo Kono

COORDENAÇÃO DE ILUSTRAÇÃO

Eduardo Bordoni

ILUSTRAÇÃO

Equipe CEDERJ

CAPA

Alexandre d'Oliveira

PRODUÇÃO GRÁFICA

Oséias Ferraz

Patricia Seabra

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

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

A885b

Attias, Márcia

Biologia celular 1: v.2. / Márcia Attias – Rio de Janeiro:
Fundação CECIERJ, 2010.

130p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-89200-63-9

1. Biologia celular. 2. Membrana celular. 3. Organelas celulares.
4. Endocitose. I. Silva, Narcisa Cunha e. II. Título.

CDD: 571.6

2010/1

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

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador
Sérgio Cabral Filho

Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia
Alexandre Cardoso

Universidades Consorciadas

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

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

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Roberto de Souza Salles

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

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

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

SUMÁRIO

Aula 13 – Receptores de membrana e princípios de sinalização celular I _____	7
<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 14 – Receptores de membrana e princípios de sinalização celular II _____	19
<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 15 – Introdução às organelas celulares _____	33
<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 16 – Retículo endoplasmático _____	43
<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 17 – Complexo de Golgi _____	59
<i>Márcia Attias</i>	
Aula 18 – Controle de qualidade da síntese protéica _____	77
<i>Márcia Attias</i>	
Aula 19 – Endocitose _____	89
<i>Márcia Attias / Narcisa Cunha e Silva</i>	
Aula 20 – Compartimentos endocíticos _____	103
<i>Márcia Attias</i>	
Gabarito _____	121

Receptores de membrana e princípios de sinalização celular I

AULA 13

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de :

- Entender como e por que as células se comunicam.
- Reconhecer os principais tipos de sinalização entre células.
- Conceituar ligante e receptor.
- Entender como moléculas hidrofóbicas atuam na sinalização.
- Entender como moléculas que não atravessam a membrana podem transmitir informação para o ambiente intracelular.

INTRODUÇÃO

Em organismos multicelulares, é essencial que as células se comuniquem, possibilitando ações coordenadas. Essa comunicação se dá através de moléculas que uma determinada célula produz e coloca no meio extracelular para serem então percebidas pelas outras células.

Se compararmos a comunicação entre células com a comunicação entre as pessoas, o assunto fica mais claro: a forma mais fácil de duas pessoas se comunicarem é pela linguagem verbal. Alguém diz uma frase que contém certa informação. Para que outra pessoa receba essa informação corretamente, é preciso primeiro que essa pessoa possa ouvir. Depois é preciso que ela entenda o idioma usado pela pessoa que disse a frase, só a partir daí o sentido da frase passa a valer.

Entre células, “dizer uma frase” não significa emitir um som, mas liberar no meio extracelular uma ou mais moléculas. Para que a informação seja transmitida, é preciso que as outras células possam “ouvir”, ou seja, é preciso que as outras células tenham **receptores** capazes de perceber a presença daquela molécula no meio extracelular. Além disso, é necessário que as células que apresentam os receptores tenham condições de decodificar a informação recebida, ou seja, “entendam o idioma”. Vamos chamar a célula que lançou a molécula de **célula sinalizadora**, a molécula que leva a informação de **ligante** e a célula que percebeu a presença do ligante no meio de **célula-alvo** (**Figura 13.1**).

Nem sempre o ligante é lançado no meio, ele pode permanecer exposto na membrana da célula sinalizadora, que precisa estar próxima o suficiente da célula-alvo para que haja contato com o receptor (**Figura 13.1**). Um sinal pode, portanto, alcançar apenas células vizinhas, se ele permanece ligado à membrana da célula sinalizadora. Mas se ele for secretado (isto é, lançado no meio extracelular), poderá se difundir e alcançar células próximas ou mesmo outras muito distantes, se ele for transportado pela corrente sanguínea.

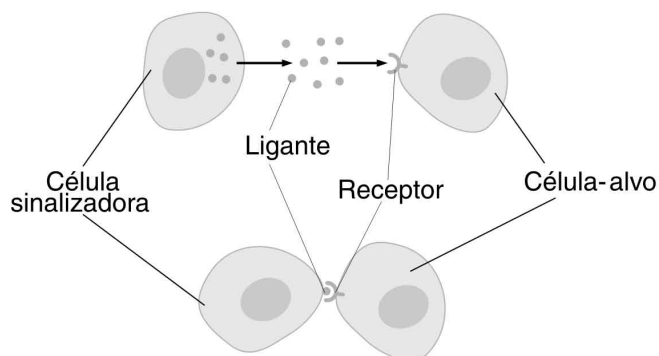


Figura 13.1: A célula sinalizadora e a célula-alvo podem, ou não, entrar em contato.

Tipos de sinalização

De acordo com a meia vida (veja o box) da molécula sinalizadora e de quais células possuem receptores para aquele sinal, podemos classificar os tipos de sinalização como:

a) **Parácrina** – a molécula sinalizadora tem vida curta e os receptores estão nas células próximas (Figura 13.2.a). Nesse caso, a molécula sinalizadora é chamada de mediador local.

b) **Autócrina** – a molécula sinalizadora tem vida curta e o receptor está na própria célula que emitiu o sinal. Para você entender melhor, compare a sinalização autócrina com algumas coisas que nós fazemos, como colocar um bilhete para nós mesmos a fim de não esquecer de fazer alguma coisa, ou anotar um compromisso na agenda, ou colocar o despertador para tocar na hora que queremos acordar. Todos esses exemplos são sinais que colocamos e nós próprios percebemos; somos, assim, tanto emissores como alvos dos mesmos sinais, que são, portanto, autócrinos (Figura 13.2.b).

c) **Dependente de contato** – a molécula sinalizadora não é secretada, ficando exposta na superfície da célula sinalizadora, e a célula-alvo precisa fazer contato para que o receptor possa se ligar (Figura 13.1).

d) **Endócrina** – a molécula sinalizadora tem vida longa, é lançada na corrente sanguínea e vai atingir células-alvo em locais distantes. Nesse caso, a molécula sinalizadora é chamada de hormônio (Figura 13.2.d).

e) **Neuronal** é um caso especial de sinalização entre células que poderia ser classificado como parácrino ou endócrino. Nessa situação, a molécula sinalizadora, chamada neurotransmissor, viaja grandes distâncias, mas não no sangue ou no meio extracelular e sim dentro de prolongamentos celulares dos neurônios, os axônios, indo atingir a célula-alvo longe do corpo celular do neurônio que emitiu o sinal, mas próximo do axônio onde a molécula sinalizadora foi secretada (Figura 13.2.c).

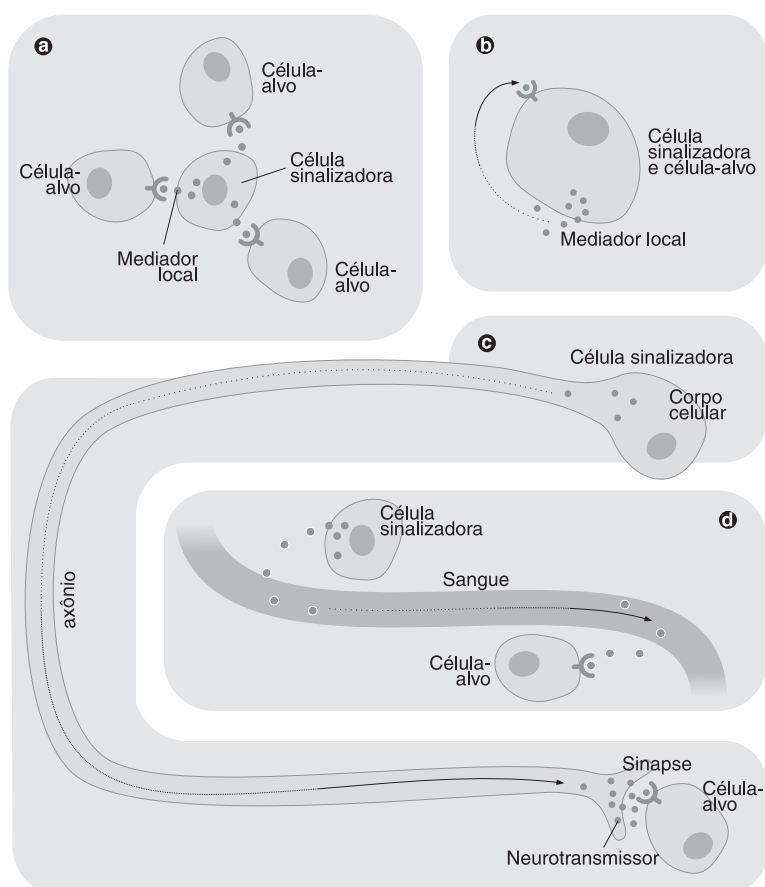


Figura 13.2: Tipos de sinalização entre células: parácrina (a), autócrina (b), neuronal (c) e endócrina (d).

A meia-vida de uma substância é o tempo que leva para que uma determinada quantidade dela perca metade de sua atividade. Esta medida da atividade é muito utilizada para compostos radioativos, mas também se aplica a hormônios, drogas e outras moléculas com atividade em sistemas bioquímicos. Algumas substâncias sinalizadoras, como o neurotransmissor acetilcolina, se degradam alguns milissegundos após serem secretadas. Já alguns hormônios permanecem ativos na circulação por várias semanas, antes de serem degradados.

Um sinal pode gerar muitas respostas diferentes

Quando a molécula sinalizadora é secretada no meio extracelular, ela entrará em contato com várias células, mas apenas um pequeno número restrito delas responderá ao sinal, porque apenas algumas expressam o receptor capaz de reconhecer a molécula sinalizadora (Figura 13.3.a).

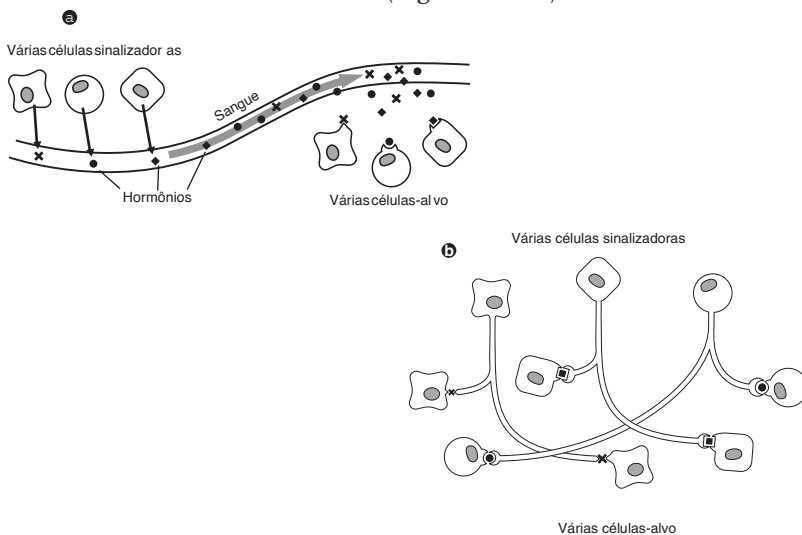
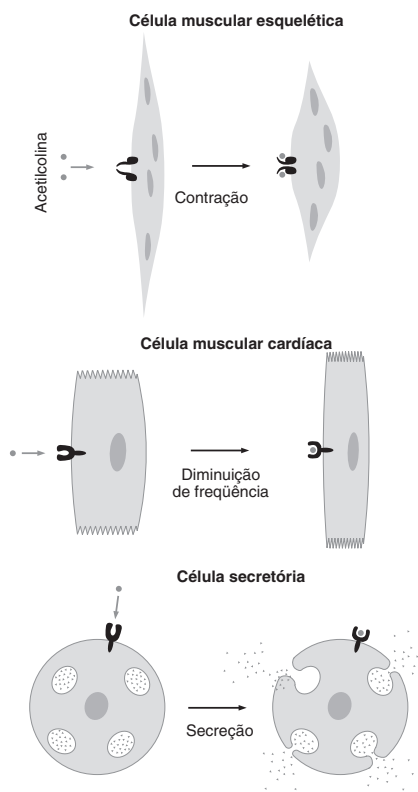


Figura 13.3: (a) Na corrente sanguínea circulam muitos hormônios, secretados por diferentes células, que atingirão várias células, mas só algumas expõem o receptor adequado. (b) Do mesmo modo, um neurônio possui diferentes prolongamentos para alcançar as células que possuem os receptores capazes de reconhecer o neurotransmissor.

Um exemplo disso é novamente o neurotransmissor acetilcolina, que serve de sinalizador para células-alvo diversas, que reagem de modo diferente ao mesmo sinal: uma célula muscular esquelética vai se contrair quando seu receptor de acetilcolina reconhecer esse neurotransmissor no meio; já no músculo cardíaco, a frequência de contração da célula muscular cardíaca até diminui na presença dessa molécula. Se a acetilcolina atingir uma célula da glândula salivar, que expressa o mesmo receptor da célula cardíaca, vai provocar uma resposta diferente: a secreção de saliva (Figura 13.4). Os receptores que essas células apresentam em sua superfície são diferentes, apesar de reconhecerem a mesma molécula sinalizadora.

Figura 13.4: Diferentes células podem responder de modo diferente à mesma molécula sinalizadora, por apresentarem diferentes receptores, como as células musculares esqueléticas e cardíaca, ou mesmo apresentando receptores iguais, como as células cardíaca e secretória.



Célula que não se comunica se “trumbica”

Cada célula recebe ao mesmo tempo vários sinais trazidos por diferentes moléculas sinalizadoras e ela os reconhece porque possui em sua superfície muitos receptores diferentes. Uma importante mudança de comportamento dessa célula pode depender da interação de vários sinais (**Figura 13.5**). Veja nessa figura que, se não recebesse nenhum sinal, essa célula morreria. Só para sobreviver ela precisa receber várias informações do meio externo, como por exemplo: sobre a disponibilidade de nutrientes, sobre o número total de células do órgão de que ela faz parte etc. Para se dividir, além dos sinais de sobrevivência, também são necessários sinais de proliferação. Para que ela se diferencie em célula especializada, é preciso que os sinais de proliferação não estejam presentes (ou que a célula não os reconheça mais porque deixou de expor os receptores para eles) ao mesmo tempo em que sinais de diferenciação apareçam. Alguns desses sinais são moléculas conhecidas, outros ainda não. Assim, quando células são mantidas *in vitro*, acrescentamos soro ao meio de cultura. O soro contém os sinais de proliferação conhecidos e também os que ainda não conhecemos.

O recente uso terapêutico de células-tronco (veja a Aula 4, de Cultura de células) é consequência natural desses conceitos e da melhoria das técnicas de obtenção de células-tronco dos tecidos de adulto (você vai saber mais numa aula específica sobre células-tronco em Biologia Celular II).

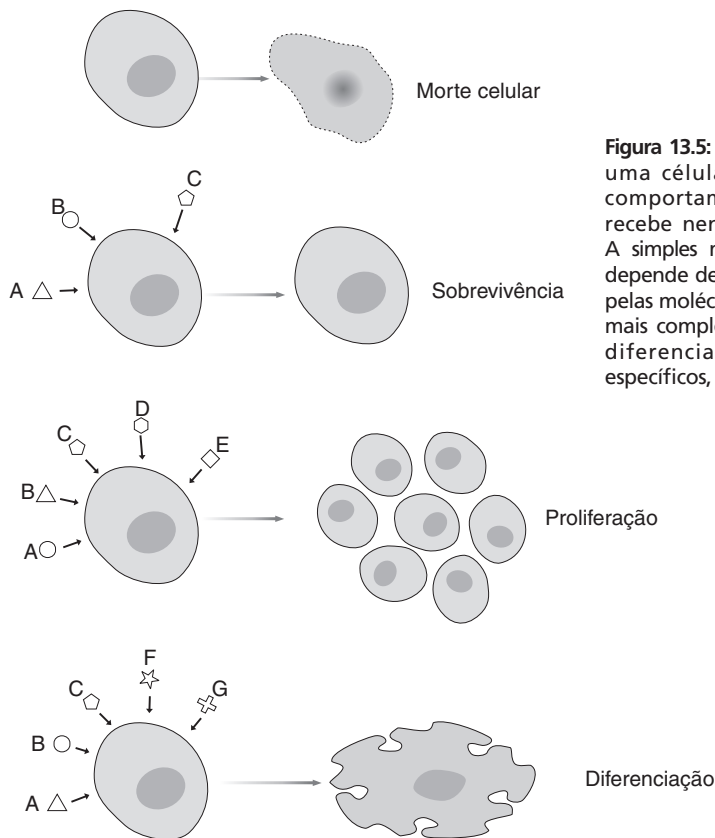


Figura 13.5: Diferentes sinais recebidos por uma célula-alvo podem modular seu comportamento. A célula que não recebe nenhum sinal acaba morrendo. A simples manutenção da vida celular já depende de várias informações sinalizadas pelas moléculas A, B e C. Comportamentos mais complexos, como a proliferação e a diferenciação, requerem sinalizadores específicos, representados por D, E, F e G.

Tipos de receptores

Qual o tipo de receptor mais adequado para receber um determinado sinal? Isso depende de que tipo de molécula esse sinal for (**Figura 13.6**):

- se a molécula sinalizadora for pequena e/ou hidrofóbica o suficiente para atravessar a membrana, o receptor deve ser intracelular;
- se a molécula sinalizadora não puder atravessar a membrana, o receptor terá de estar obrigatoriamente na membrana plasmática, exposto na superfície celular.

Essas características de afinidade, isto é, permeabilidade entre as moléculas sinalizadoras e as membranas celulares, mais especificamente a bicamada lipídica, já foram abordadas na Aula 8.

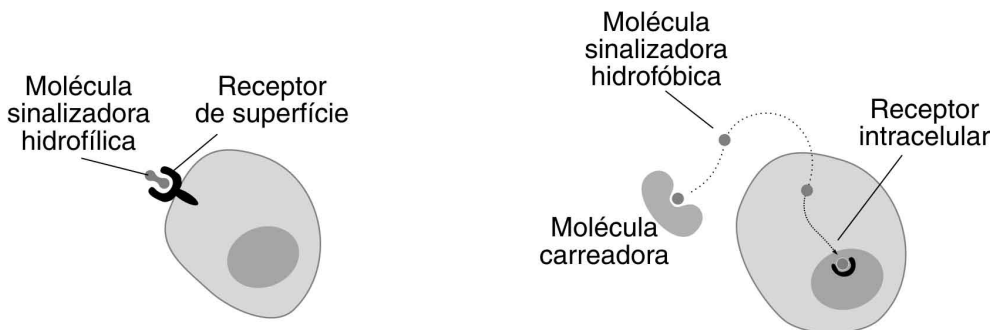


Figura 13.6: Os receptores para moléculas hidrofílicas ficam voltados para o meio extracelular (a) enquanto os receptores para sinalizadores pequenos e hidrofóbicos são intracelulares (b).

Sinalização por ligantes hidrofóbicos

O exemplo mais notável desse tipo de sinalização é o do óxido nítrico (NO). Essa pequena molécula age sobre as células musculares lisas que envolvem os vasos sanguíneos, provocando vasodilatação local. Promovendo o relaxamento dessas células musculares, o NO faz com que o vaso aumente de calibre, deixando o sangue fluir mais facilmente. O NO é produzido nas células endoteliais que revestem os vasos, isto é, bem perto das células sobre as quais ele age. Quando um impulso nervoso chega a essas células, elas ativam uma enzima, a óxido nítrico sintase (NOS), que produz NO a partir do aminoácido arginina. O NO é um gás e, assim como o O_2 e o CO_2 , ele atravessa as membranas por difusão simples (a Aula 8), saindo da célula na qual foi produzido e se espalhando rapidamente pelas células vizinhas. Nas células musculares lisas, o NO ativa outras enzimas, o que leva à vasodilatação. O NO é um mediador local, fazendo sinalização parácrina.

VIAGRA É NO. VOCÊ SABIA?

Muitas células nervosas também usam o óxido nítrico como mediador local. No pênis, por exemplo, a liberação de NO pela inervação autônoma local age sobre a musculatura lisa, ativando enzimas cujos produtos dilatam os vasos que se enchem de sangue, causando a ereção.

A sinalização mediada por óxido nítrico dura pouco porque o NO é rapidamente degradado e vira nitrito. O produto das enzimas que ele ativa também dura pouco porque também é degradado rápido. O mecanismo de ação de alguns medicamentos, como o Viagra, é impedir a degradação do produto das enzimas ativadas por NO, fazendo, assim, a vasodilatação durar mais tempo.

O que chamamos de hormônios não passam de sinalizadores

Como vimos, o NO age sobre uma enzima que já está pronta na célula, precisando apenas ser ativada. Nem sempre é assim com outras moléculas sinalizadoras. O NO difunde-se rápido porque é gasoso, mas tem vida curta. Outras moléculas sinalizadoras hidrofóbicas também são capazes de atravessar membranas e têm vida muito mais longa (são moléculas muito mais estáveis). Elas são produzidas e secretadas por células glandulares, viajando grandes distâncias pela corrente sanguínea até achar células-alvo. Essas moléculas sinalizadoras são chamadas **hormônios**. Como são hidrofóbicas, têm problemas para viajar pela corrente sanguínea e o meio extracelular, que são aquosos.

Por isso, precisam associar-se a moléculas hidrofílicas que tenham um sítio capaz de acomodá-la. Essa molécula hidrofílica, que chamamos **carreadora** (Figura 13.6.b), frequentemente é a albumina do soro. Ao chegar bem perto da membrana de uma célula, a molécula sinalizadora (ligante) se solta da carreadora e se difunde pela bicamada lipídica, entrando na célula. O receptor para este ligante deve estar no citoplasma e, com a chegada deste, fica ativo, desempenhando suas funções.

É muito frequente, porém, que o receptor seja um fator de transcrição, isto é, uma molécula que, com a chegada do ligante, forma um complexo que entra no núcleo e vai ativar a transcrição de um gen (Figura 13.7).

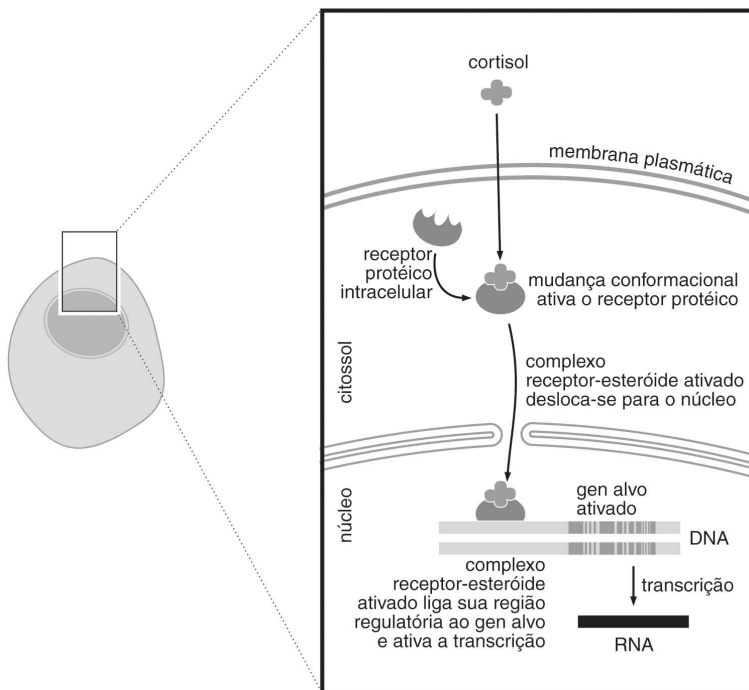


Figura 13.7: O cortisol, produzido pelas glândulas supra-renais, é um sinalizador hidrofóbico que forma um complexo receptor ligante, entrando no núcleo, onde vai ativar a transcrição de um gen.

Claro que essa resposta demora muito mais para aparecer do que aquela que depende apenas da ativação de uma molécula que já estava pronta. Mas também permanece mais tempo, já que o gen ativado produzirá uma proteína que não será degradada de imediato. Alguns dos hormônios mais conhecidos agem assim, como por exemplo os hormônios esteróides (testosterona, estrogênio, cortisol e outros) e os tireoidianos.

Sinalização por ligantes hidrofílicos

Mas e se o ligante não consegue atravessar a membrana? O que você faria para passar uma informação para alguém que está num lugar onde você não pode entrar? Não vale telefonar! Acho que o jeito seria mandar um recado por alguém que estivesse na porta (ou na janela!). E recomendar muita atenção para que o recado chegue direitinho.

Quando a molécula sinalizadora é hidrofílica e/ou grande, não podendo, portanto, atravessar a bicamada lipídica, o receptor vai ter de funcionar como um verdadeiro garoto de recados, mas sem sair

da membrana onde tem de estar obrigatoriamente exposto (**Figura 13.6.a**). Quando o receptor recebe a molécula sinalizadora, ele invariavelmente muda de conformação. A mudança conformacional passa a informação adiante porque muda o comportamento do receptor. Vamos ver quais são as principais classes de receptores para ligantes hidrofílicos e o que acontece depois da chegada do ligante a cada um deles, passando a informação adiante.

Existem **três tipos de receptor de sinalização** na membrana plasmática: a) os receptores do tipo canal; b) os associados à proteína G e c) os receptores enzimáticos. Em comum eles possuem o fato de serem proteínas transmembrana e de não entrarem na célula (a não ser que devam ser degradados), o que os diferencia dos receptores de endocitose (você vai conhecê-los na Aula 19), que entram na célula junto com o ligante. Vamos ver as características básicas de cada um.

a) Receptores do tipo canal

Esses você já conhece das Aulas 10 e 11, de transporte. São os canais controlados por ligante. Esses receptores podem ser os canais eles próprios ou estar associados a um canal iônico, de modo que a mudança conformacional induzida pelo ligante ativa o canal associado, que se abre (**Figura 13.8**). Um bom exemplo é o receptor de acetilcolina em células musculares esqueléticas.

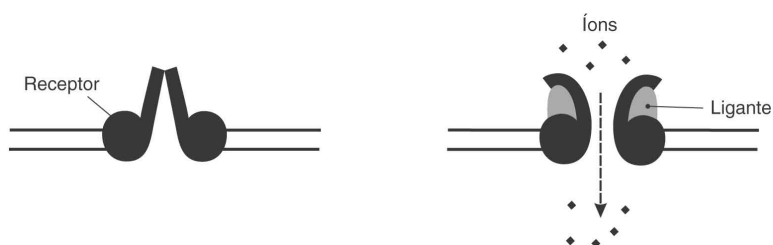


Figura 13.8: Os canais iônicos ativados por ligante possuem sítios receptores para o ligante que mudam sua conformação, abrindo o canal iônico.

b) Receptores ligados à proteína G

São proteínas transmembrana multipasso (lembra? da aula 10!) que atravessam a membrana sete vezes e cuja mudança conformacional ao receberem o ligante os faz ativar uma segunda proteína, que também muda de conformação, passando o sinal adiante. Esses receptores são bastante variados, mas a segunda proteína que é ativada não varia muito. Ela é chamada **proteína G** porque pertence a uma família de proteínas que ligam GTP, ficando ativadas, e depois hidrolisam o GTP a GDP + Pi, voltando ao estado inativo (**Figura 13.9**). As proteínas G funcionam como interruptores: com GTP estão “ligadas” e com GDP estão “desligadas”.

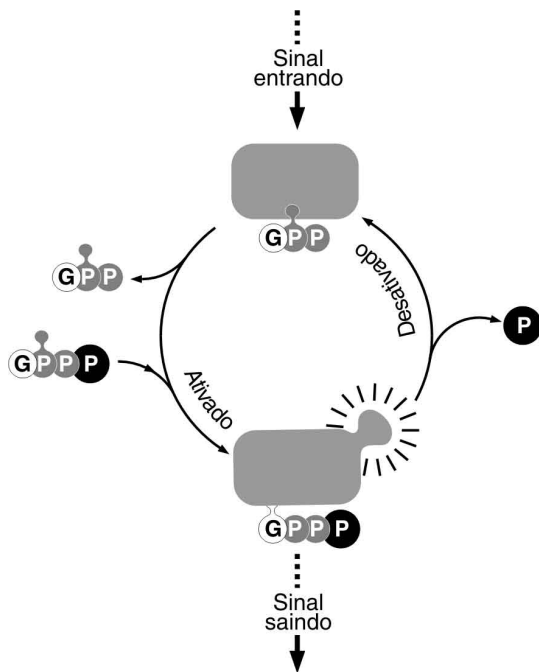
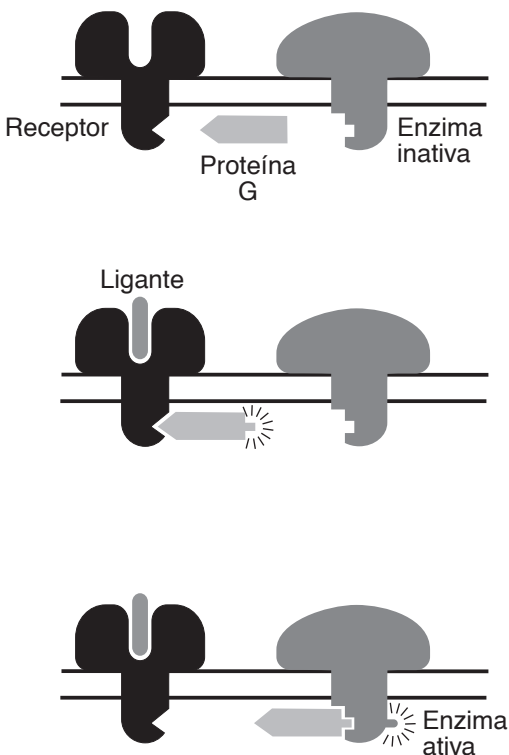


Figura 13.9: Quando chega um sinal, a proteína G solta o GDP que estava ligado a ela. Um GTP, abundante no citoplasma das células, logo o substitui, ativando a proteína G, que passa o sinal adiante. Logo após, a proteína G hidrolisa o GTP e libera o P_i , voltando ao estado de repouso.

Tamanho é documento?

Existem proteínas G de vários tamanhos, podendo ter apenas uma cadeia protéica (monoméricas, como as da superfamília Ras que você vai conhecer na próxima aula), duas (heterodiméricas, como a tubulina que forma os microtúbulos, Aula 23) ou três (heterotriméricas, que você verá na aula seguinte a essa, funcionando em sinalização celular). Das três subunidades da proteína G, a α é a que liga e hidrolisa GTP, enquanto a dupla $\beta\gamma$ é responsável pelo ancoramento ao folheto citoplasmático da membrana.

As proteínas G, ao serem ativadas, podem funcionar ativando outras proteínas, quando são chamadas **proteínas G estimulatórias** (Gs), ou inibidas, sendo chamadas **proteínas G inibitórias** (Gi).



Proteína G estimulatória: o efeito dominó (ou cascata) de sinalização

Um receptor que recebeu o ligante ativa a proteína G, que vai por sua vez ativar uma terceira proteína, geralmente uma enzima (Figura 13.10).

Figura 13.10: Sinalização por receptor associado à proteína G. A enzima pode ser a adenilciclase ou a fosfolipase C.

As enzimas ativadas por proteína G devem funcionar de modo a passar o sinal adiante. As enzimas que fazem isso são principalmente a **adenilciclase** e a **fosfolipase C**. Elas têm em comum, além de serem ativadas por proteína G, claro, o fato de sua ação enzimática gerar produtos pequenos e de curta duração, os **mensageiros secundários**. Vamos estudar uma de cada vez na aula seguinte.

RESUMO

- Receptores para ligantes hidrofóbicos ou muito pequenos estão no citoplasma ou no núcleo.
- Ligantes que entram na célula podem ter vida muito curta e provocar respostas rápidas, como o óxido nítrico, ou ter vida longa e provocar resposta lenta e duradoura, como os hormônios esteróides.
- Receptores de ligantes hidrofílicos estão na membrana plasmática. Ligantes hidrofílicos não entram na célula, mas passam a informação para o ambiente intracelular.
- Receptores de ligantes hidrofílicos podem ser de três tipos: canal, associados à proteína G ou enzimáticos.
- Receptores mudam de conformação com a chegada do ligante.

EXERCÍCIOS

1. Conceitue:
 - a. Receptor:
 - b. Ligante:
 - c. Molécula sinalizadora:
 - d. Célula-alvo:
2. Compare e diferencie sinalização parácrina de sinalização autócrina.
3. Compare e diferencie sinalização endócrina de sinalização neuronal.

4. Avalie se as frases abaixo estão certas ou erradas:

- Uma molécula sinalizadora pode ser reconhecida por vários tipos celulares diferentes. ()
- Um tipo celular possui vários receptores de um mesmo tipo. ()
- Um tipo celular possui receptores de tipos diferentes. ()
- Uma mesma molécula sinalizadora tem efeitos diferentes em diferentes tipos celulares. ()

5. Que características deve ter um sinalizador que é reconhecido por um receptor intracelular?

6. Por que os efeitos da administração de um hormônio esteróide podem demorar muito para aparecer?

7. De que maneiras pode atuar um ligante hidrofílico?

8. Dê um exemplo de ligante e receptor do tipo canal, especificando em que células estão presentes.

9. O que são proteínas G?

10. O que você entende por proteína G inibitória? E proteína G estimulatória?

Receptores de membrana e princípios de sinalização celular II

AULA 14

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Entender os mecanismos de geração de mensageiros secundários.
- Entender a dinâmica de uma cascata de sinalização.
- Entender as principais vias de sinalização por receptores enzimáticos.
- Associar fenômenos como a resposta inflamatória e o câncer a fenômenos de sinalização.

INTRODUÇÃO

Na aula anterior, vimos que a comunicação entre as células se baseia no reconhecimento de uma molécula sinalizadora (também chamada ligante) por uma proteína receptora. Vimos também que um sinalizador que seja uma molécula pequena e hidrofóbica pode atravessar a bicamada lipídica e ser reconhecido no citoplasma, ou mesmo chegar ao núcleo da célula. Já os ligantes hidrofílicos são reconhecidos por proteínas expostas na superfície da célula-alvo, desencadeando uma cascata de sinalização no citossol. Das três vias de sinalização desencadeadas por ligantes hidrofílicos, já foram estudadas na Aula 13 os canais ativados por ligantes e os princípios de sinalização via proteína G. O que estudaremos a partir de agora são os eventos que a proteína G dispara no meio intracelular. A seguir, abordaremos o funcionamento das vias enzimáticas de sinalização de receptores.

Adenilciclase

Volte à **Figura 13.10**. Note que as proteínas ali esquematizadas parecem estar brincando de telefone sem fio, aquela brincadeira em que o primeiro da fila diz uma frase para o segundo, que repete para o terceiro e assim por diante até o último da fila repetir a frase inicial. Na brincadeira, o engraçado é a distorção da mensagem inicial; já na vida celular, a mensagem deve ser encaminhada sem erros para que o resultado final seja o esperado. A adenilciclase, uma vez ativada por proteína G, hidrolisa ATP de um modo especial, retirando dois fosfatos de uma vez só (**Figura 14.1**). O que sobra, o AMP (adenosina monofosfato), torna-se uma molécula cíclica, sendo chamado AMP cíclico (AMPC).

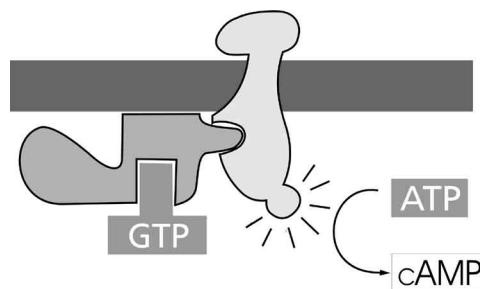


Figura 14.1: A proteína G ativa a adenilciclase, levando-a a formar AMPC a partir de ATP.

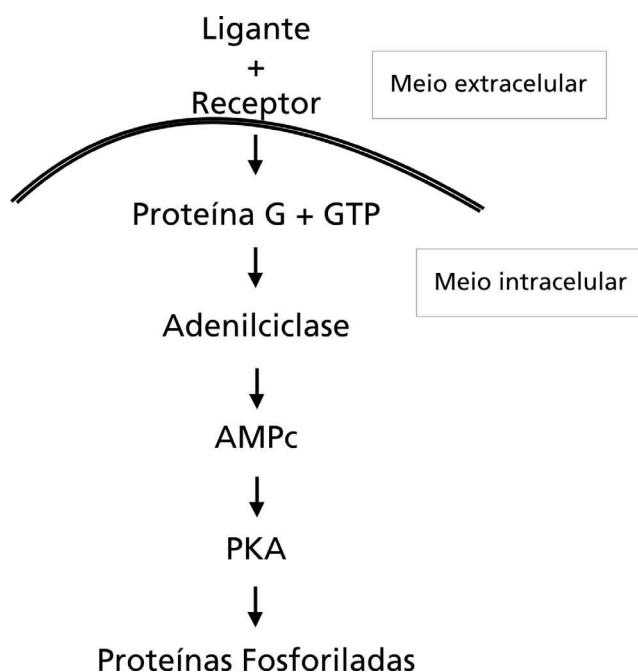
O AMPc, como todo mensageiro secundário, normalmente está presente em concentrações muito baixas no citoplasma das células. Assim, quando uma mensagem chega e é reconhecida por um receptor que ativa proteína G, que por sua vez ativa adenilciclase, que produz AMPc, a elevação súbita da concentração desse mensageiro é prontamente percebida pela célula. Muitas enzimas citoplasmáticas são ativadas por AMPc e reagem a esse pico de concentração. Para esse mecanismo funcionar bem, é preciso que a concentração de AMPc baixe tão rápido quanto subiu, assim, a célula poderá perceber o próximo sinal. A enzima responsável por isso é a AMPc-fosfodiesterase, que faz com que a molécula fique linear (passando a se chamar AMP-5' monofosfato), perdendo a função. Mas ela não vira lixo, não! Pode mais tarde receber outros fosfatos, voltando a ser o precioso ATP.

E o AMPc? Faz o quê?

O AMPc dispara uma enorme diversidade de eventos, ativando enzimas, abrindo canais iônicos etc. com muitas conseqüências em termos da atividade celular. Uma das enzimas mais importantes ativadas por AMPc é a proteína quinase A (PKA). Uma proteína quinase é uma enzima que fosforila outras proteínas. A proteína quinase A ganhou esse nome por causa de seu modo de ativação, o A é de AMPc.

Dê uma paradinha!

Esse negócio está ficando confuso, não? Tudo aconteceu por causa de um ligante que nem mesmo entrou na célula! Vamos resumir a seqüência de eventos para que fique mais claro:



E que diferença faz uma proteína ser fosforilada?

Muita! Proteínas que podem ser fosforiladas alternam entre um estado ativado e outro inativo, um deles com fosfato e outro sem. É o mesmo mecanismo liga/desliga da proteína G em relação ao GTP, lembra (Figura 13.9)? Essa mudança de estado das proteínas é que vai mudar finalmente o comportamento da célula, em resposta àquela mensagem que ela recebeu do ligante lá na membrana. A PKA também pode entrar no núcleo e ativar genes que passarão a ser transcritos, o que também vai mudar o comportamento celular, só que mais lentamente, já que depende de mudanças de expressão gênica.

A seqüência de eventos entre o receptor e a mudança de comportamento da célula é chamada cascata de sinalização (Figura 14.2).

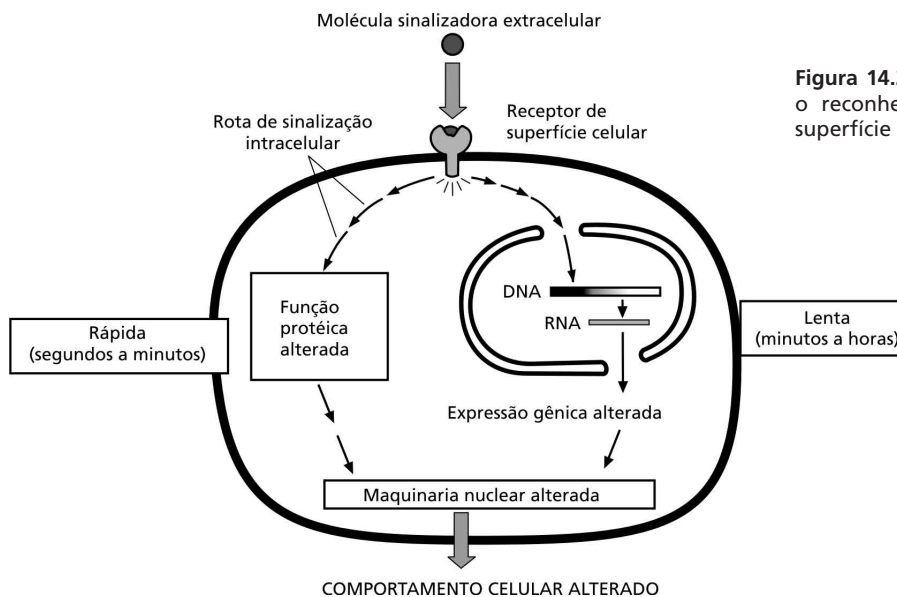


Figura 14.2: Cascata de eventos entre o reconhecimento pelo receptor de superfície e a resposta final.

Bonita e cheirosa? Depende da proteína G.

Uma das funções mais interessantes do AMPc é servir de mensageiro em neurônios olfativos. Esses neurônios possuem centenas de receptores acoplados à proteína G (cada neurônio tem receptores para apenas um tipo de odor). Quando as moléculas odoríferas se ligam aos receptores, eles ativam uma proteína G especial, que ativa adenilciclase, que produz AMPc (até aqui, tudo igual). Esse mensageiro abre canais de sódio especiais desses neurônios, despolarizando-os e levando o impulso nervoso adiante até que o "cheiro" atinja o cérebro.

Os impulsos nervosos do sistema visual também são gerados por fotorreceptores acoplados à proteína G em neurônios especiais da retina, mas ao invés de ativar adenilciclase ela interfere com a atividade de guanilil ciclase (que forma GMP cíclico, GMPc) e a fosfodiesterase correspondente. Os bastões, neurônios responsáveis pela visão na penumbra, têm canais de sódio ligados à GMPc permanentemente abertos no escuro. Quando os fotorreceptores (que têm o nome especial de rodopsina) recebem um fóton, a proteína G acoplada ativa a GMPc fosfodiesterase, que lineariza o GMPc, soltando-o dos canais de sódio, que se fecham. Com isso, o neurônio hiperpolariza, transmitindo o impulso. Quantos GMPcs será que sua retina produziu enquanto você lia isto aqui?

Fosfolipase C, outra enzima ativada por proteína G

Outra enzima frequentemente ativada por proteína G é a fosfolipase C. Como seu nome está dizendo, essa enzima hidrolisa um fosfolípido. Uma fosfolipase é classificada como A, C ou D de acordo com o local onde ela corta o fosfolípido. A fosfolipase C corta entre o fosfato e o glicerol (para lembrar a estrutura do fosfolípido, veja a Aula 7). Não é qualquer fosfolípido que pode ser clivado pela fosfolipase C. O alvo da fosfolipase C ativada por proteína G é um fosfolípido da face interna da membrana plasmática, o fosfatidilinositol 4,5 bifosfato, mais conhecido pela sigla PIP₂. A clivagem gera duas moléculas: 1) o diacilglicerol, também conhecido como DAG, um glicerol com duas caudas de ácido graxo, que permanece na membrana; e 2) o inositol trifosfato (IP₃), que é liberado para o citoplasma (Figura 14.3).

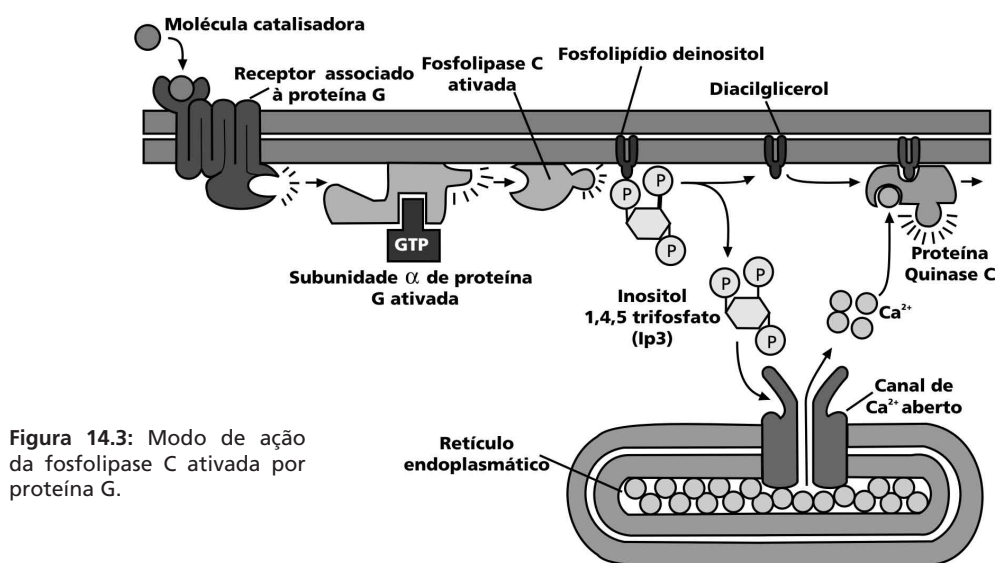


Figura 14.3: Modo de ação da fosfolipase C ativada por proteína G.

DAG e IP₃, separados, mas trabalhando em conjunto

As duas moléculas produzidas, DAG e IP₃, terão funções diferentes em locais diferentes. O DAG permanece na bicamada interna da membrana plasmática, onde se movimenta com grande velocidade e vai recrutar do citoplasma uma proteína quinase ainda no estado inativo. Ela só será ativada por cálcio depois de recrutada, por isso se chama proteína quinase C (PKC). E de onde vem o cálcio que vai ativá-la? Isso é função da outra molécula produzida pela fosfolipase, o IP₃. Ele difunde rápido pelo citoplasma e vai encontrar seu receptor na membrana do retículo endoplasmático. Esse receptor é do tipo canal, e quando o IP₃ se liga ele abre um canal que deixa vaziar cálcio para o citoplasma, ativando a PKC e várias outras proteínas (Figura 14.3).

Nesse tipo de cascata de sinalização, o cálcio é o mensageiro secundário e pode afetar diretamente componentes do citoesqueleto, como os microtúbulos, disparar mecanismos de secreção ou prosseguir a cascata, ativando diretamente enzimas como proteína quinase C, que vai fosforilar outras proteínas passando o sinal adiante.

Favoreça-me com sua ausência!

Todo mensageiro secundário que se preza normalmente está presente em baixíssimas concentrações no citoplasma. Quando ocorre uma sinalização, a súbita elevação de concentração (um pico de concentração) é prontamente percebida e provoca modificações no comportamento celular.

O cálcio pode ser apenas um intermediário na cascata

Nem sempre o efeito do cálcio é direto, ele também modifica o comportamento de várias outras proteínas depois de se complexar com proteínas ligadoras de cálcio. A mais importante delas é a calmodulina: uma vez ligada ao cálcio, ela modifica o comportamento de muitas enzimas, inclusive quinases.

Como todo mensageiro de verdade, a concentração do cálcio tem de baixar rápido para que a célula esteja pronta a perceber o próximo sinal. Você sabe como o íon cálcio é rapidamente expulso do citossol? É um verdadeiro "salve-se quem puder" com várias vias de escape distribuídas na célula. Veja na **Figura 14.4** como o cálcio tanto pode ser expulso para fora da célula como pode ficar escondido no retículo endoplasmático e na mitocôndria ou mesmo desaparecer ao associar-se a uma proteína citosólica.

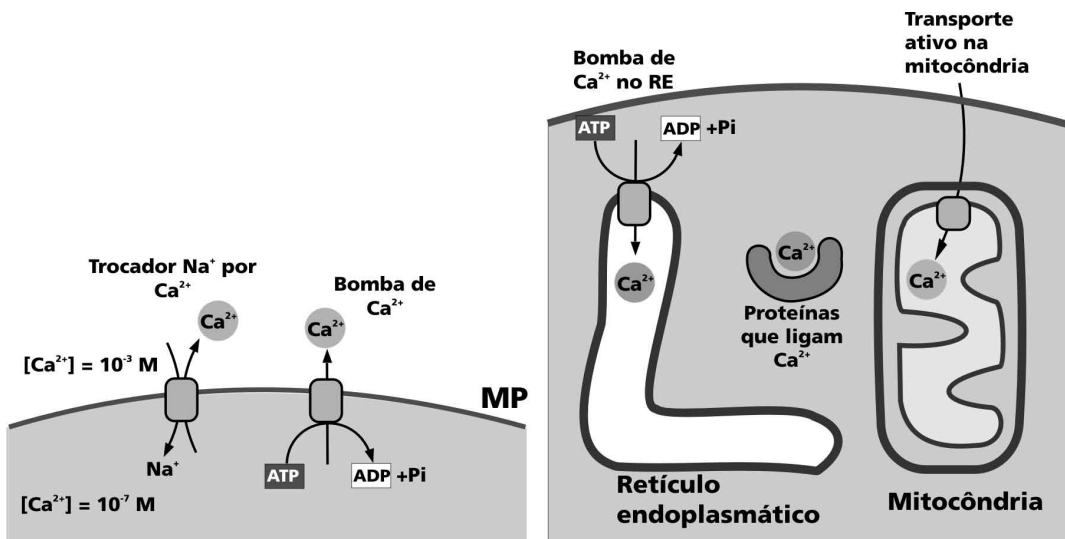


Figura 14.4: A concentração intracelular de cálcio é mantida baixa por vários mecanismos, como trocadores iônicos e ATPases cálcio dependentes presentes na membrana plasmática (MP) e na membrana do retículo endoplasmático, ou também por transporte ativo da membrana mitocondrial interna ou proteínas que se ligam ao cálcio no citossol.

A concentração de cálcio é de cerca de 10^{-7}M no citoplasma e da ordem de 10^{-3}M no meio extracelular. Uma diferença de 10.000 vezes! Para manter essa diferença, vários mecanismos funcionam permanentemente. Na membrana plasmática, há uma proteína trocadora de cálcio por sódio que usa a energia do gradiente de sódio gerado pela bomba de sódio e potássio para, sem gasto suplementar de energia, botar cálcio para fora. Além dela, há uma outra bomba de cálcio na membrana plasmática que hidrolisa ATP para obter a energia necessária (aí sim, transporte ativo) e proteínas ligadoras de cálcio no citoplasma que tornam o íon indisponível para outras reações.

Quando ocorre um pico de cálcio proveniente de sinalização, a concentração normal aumenta 100 vezes, chegando a 10^{-5}M . Nessa situação, além das bombas na membrana plasmática, entra em funcionamento a bomba de cálcio do retículo endoplasmático, que recolhe de volta o cálcio liberado, mas se surgir algum problema, como uma lesão na membrana plasmática (que logo será selada), e a concentração subir mais, chegando a 10^{-3}M , a mitocôndria passa a bombear cálcio para dentro usando a energia do gradiente de prótons, deixando temporariamente de produzir ATP. Isso é um mecanismo de emergência, que raramente ocorre.

Mitocôndrias e cálcio, uma relação questionada

Durante muito tempo se pensou que as mitocôndrias eram as principais (senão as únicas) responsáveis pela manutenção da baixa concentração citoplasmática de cálcio, já que essas organelas deixavam até de fazer ATP para sequestrar cálcio. Essa idéia estava baseada em experimentos em que mitocôndrias isoladas eram colocadas em soluções com concentração fisiológica de cálcio, ou seja, os mesmos níveis do plasma sanguíneo, $5 \times 10^{-3}\text{M}$. Como resultado, as mitocôndrias bombeavam cálcio para dentro, formando precipitados de fosfato de cálcio. O detalhe é que essa situação experimental está muito longe da fisiológica. O que podemos concluir desse exemplo é que a biologia da célula está muito longe de ter todos os seus mistérios solucionados, o que é mais um estímulo para seu estudo: há sempre novidades surgindo nesta área!

Resumimos na **Figura 14.5** as duas principais vias de sinalização ativadas por proteína G: a da adenilciclase e a da fosfolipase C. Repare que, apesar dos nomes diferentes, há muita analogia entre os dois processos.

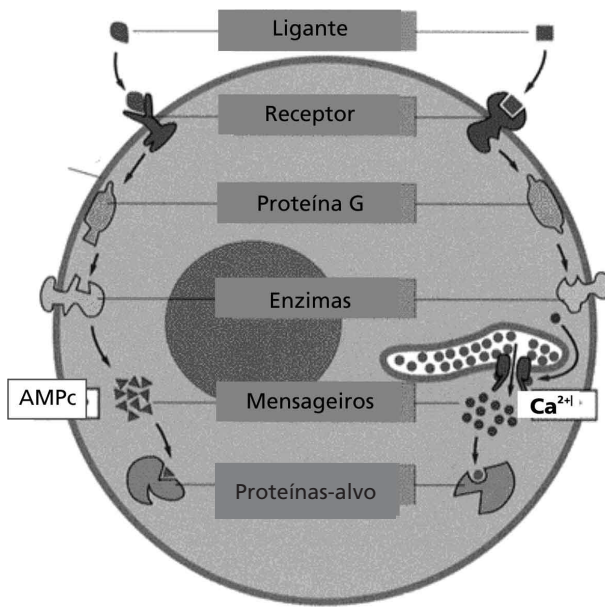


Figura 14.5: Uma vez acoplados ao ligante, receptores ativam diferentes proteínas G, que ativam adenilciclase, que gera AMPc, ou fosfolipase C que gera IP3 e libera cálcio do retículo endoplasmático.

Receptores enzimáticos

Um receptor desse tipo passa a informação recebida por meio de atividade enzimática, e para fazê-lo tem de ter dois **domínios especiais**: o que **reconhece o ligante**, exposto na superfície da célula, e o **sítio catalítico**, voltado para o citoplasma (**Figura 14.6**). Quando o ligante é reconhecido pela parte exposta do receptor, a mudança conformacional resultante torna ativo o sítio catalítico intracelular. É como o ferro de passar: liga em cima e esquentando embaixo...

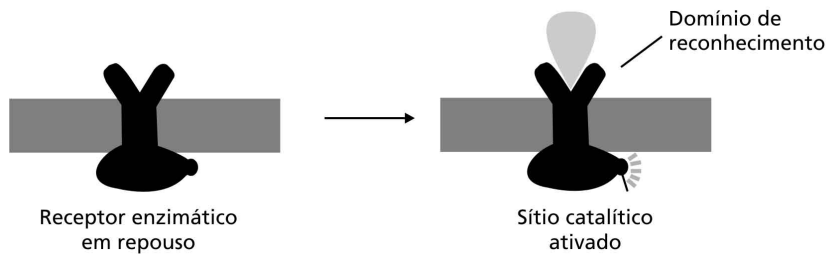


Figura 14.6: Esquema de operação de um receptor enzimático.

Tirosinas quinase, receptores enzimáticos da maior importância

O principal tipo de receptor enzimático são os **receptores tirosina quinase**. Estes são enzimas que fosforilam (adicionam um radical fosfato) ao aminoácido tirosina em cadeias laterais de proteínas. Curiosamente, seu primeiro substrato é uma molécula igual a ela: os receptores tirosina quinase formam dímeros em que uma molécula fosforila a

outra, reciprocamente (Figura 14.7). Depois que um receptor fosforila o outro, várias proteínas são recrutadas do citoplasma pelas fosfotirosinas dos receptores. Esse fenômeno dura apenas alguns segundos, já que a fosforilação pelas tirosina quinases é logo revertida por proteínas tirosina fosfatases. As proteínas recrutadas passam a estar ativas e vão, assim, passar o sinal adiante.

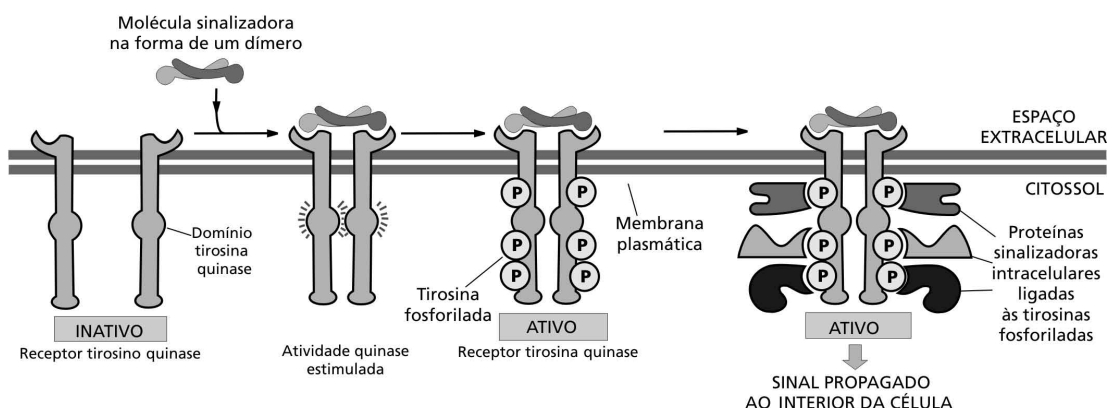


Figura 14.7: Funcionamento dos receptores tirosina quinase.

Um exemplo de sinalização por tirosina quinase: a proteína Ras

Algumas das proteínas recrutadas pelas tirosinas fosforiladas não têm atividade enzimática, são apenas adaptadoras que vão permitir o encaixe com outras proteínas. A mais importante dessas proteínas é a **Ras**, uma proteína associada ao folheto interno da membrana capaz de hidrolisar uma molécula de GTP a GDP (Figura 14.8). Quando certos receptores tirosina quinase são fosforilados, eles recrutam proteínas adaptadoras e uma ativadora de Ras, que vai fazer com que ela libere o GDP, que logo será substituído por um GTP. A Ras-GTP fica ativa e vai propagar um sinal em cascata que terminará por promover, na maioria das vezes, a proliferação ou a diferenciação celular.

Os receptores que ativam essa via são os receptores de fatores de crescimento, como o EGF (fator de crescimento epidérmico), NGF (fator de crescimento neuronal), o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), o VEGF (fator de crescimento vascular, que estimula a angiogênese).

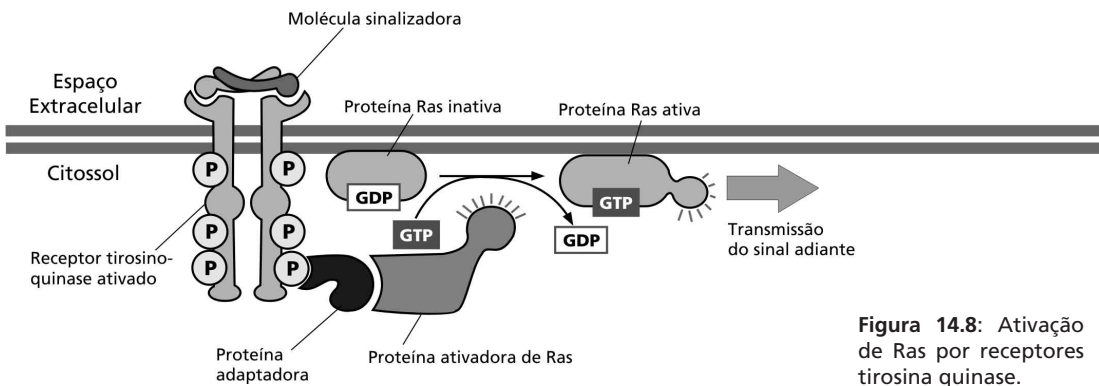


Figura 14.8: Ativação de Ras por receptores tirosina quinase.

Entretanto, a Ras não permanece muito tempo no estado ativo. Logo ela hidrolisa o GTP, voltando ao seu estado ligado a GDP, que é inativo.

Ras defeituosa? Desastre à vista

Justamente por induzir mudanças celulares tão importantes, quando as vias de sinalização mediadas por Ras têm defeitos, as consequências são muito graves. Se esses defeitos impedirem a atividade GTPásica, a Ras permanecerá no estado ativado, fazendo com que as células portadoras da molécula defeituosa não parem de proliferar, o que pode gerar um câncer. De fato, cerca de 30% dos tumores possuem células com Ras defeituosa. Defeitos em outros componentes dessa cascata de sinalização também levam à tumorização.

A fosforilação de outros aminoácidos também é sinalizadora

Além dos receptores com atividade tirosina quinase, há os que têm atividade de fosforilação dos aminoácidos serina ou treonina (**receptores serina/treonina quinases**). A ativação desses receptores leva à ativação de proteínas reguladoras de expressão gênica.

Em algumas vias importantes, os mecanismos de fosforilação em tirosina estão fortemente associados aos de fosforilação em serina/treonina, que são mais duradouros. Assim, receptores de fatores de crescimento com atividade tirosina quinase ativam serina/treonina quinases citoplasmáticas, que formam uma cascata de sinalização com vários passos até chegar ao núcleo e modificar a expressão gênica.

A reação a uma infecção por vírus é disparada por tirosina quinases

Existem, porém, mecanismos mediados por receptores enzimáticos que modificam a expressão gênica mais rapidamente. Um dos mais notáveis é o mecanismo disparado por γ -interferon (citocina secretada por glóbulos brancos em resposta à infecção viral, principalmente). O γ -interferon produzido por células infectadas é reconhecido por receptores de γ -interferon que ativam uma via de tirosina quinases citoplasmáticas chamadas Janus quinases (Jaks), em referência ao deus romano de duas faces. As Jaks fosforilam uma série de proteínas reguladoras de expressão gênica (as STATs), que rapidamente entram no núcleo e ativam a transcrição de vários genes que codificam proteínas que aumentam a resistência à infecção viral. Além do α -interferon, também os receptores para γ -interferon (que ativa macrófagos), eritropoietina (que estimula a produção de hemácias), prolactina (que estimula a produção de leite) e hormônio do crescimento usam a via de Jaks e STATs.

Receptores enzimáticos na resposta inflamatória: a poderosa NF-KB

Fatores que induzem inflamação em resposta a infecções ou lesões também usam receptores enzimáticos. O fator de necrose tumoral (TNF- α) produzido por macrófagos é reconhecido por receptores em muitas células e ativa uma proteína citoplasmática, a NF-KB, que se desloca para o núcleo e “liga” mais de 60 genes que participam da resposta inflamatória.

Amplificação de sinais

Pensando bem, qual é a vantagem de existirem cascatas de sinalização intracelular? Elas parecem tão complicadas, com tantos componentes, tantas passagens de informação, que devem ser altamente suscetíveis a erro! Mas se esse mecanismo se manteve evolutivamente conservado, estando presente tanto

em leveduras como no homem, deve haver uma grande vantagem!

Examinando todo o processo, sem dúvida alguma essa vantagem é a enorme **amplificação do sinal inicial**, como podemos ver na Figura 14.9.

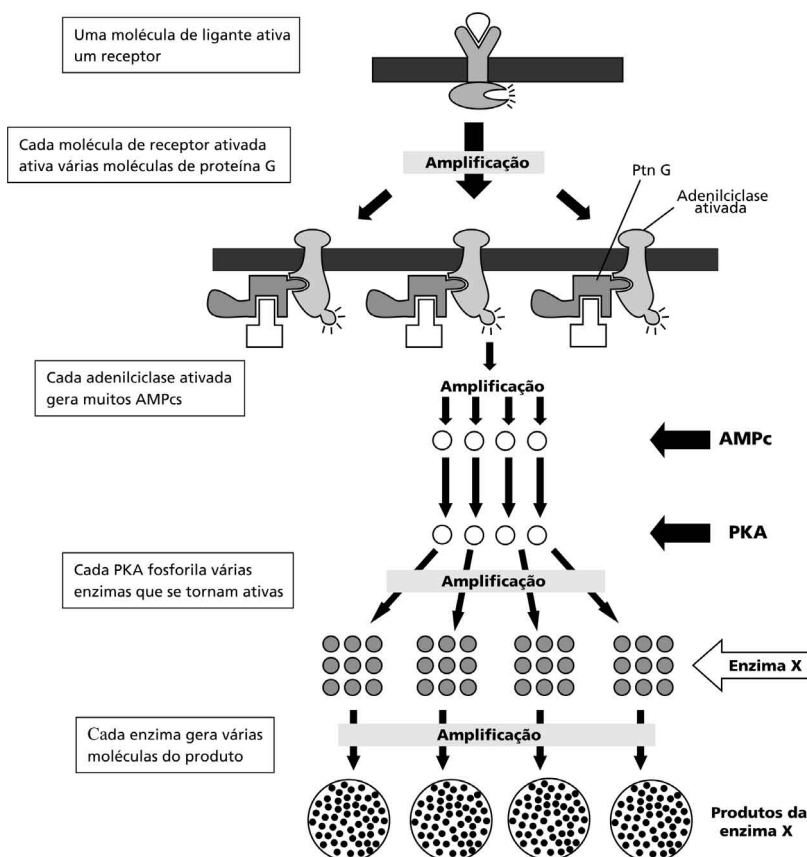


Figura 14.9: Amplificação de sinais nas cascatas de sinalização.

Integração de sinais

Como você já deve ter imaginado, freqüentemente as cascatas de sinalização iniciadas por diferentes receptores se cruzam na célula, isto é, têm componentes em comum. Dois exemplos bem simples estão esquematizados na **Figura 14.10**. É preciso que estejam presentes os dois ligantes, A e B, reconhecidos por seus respectivos receptores, para que a sinalização possa prosseguir numa via comum.

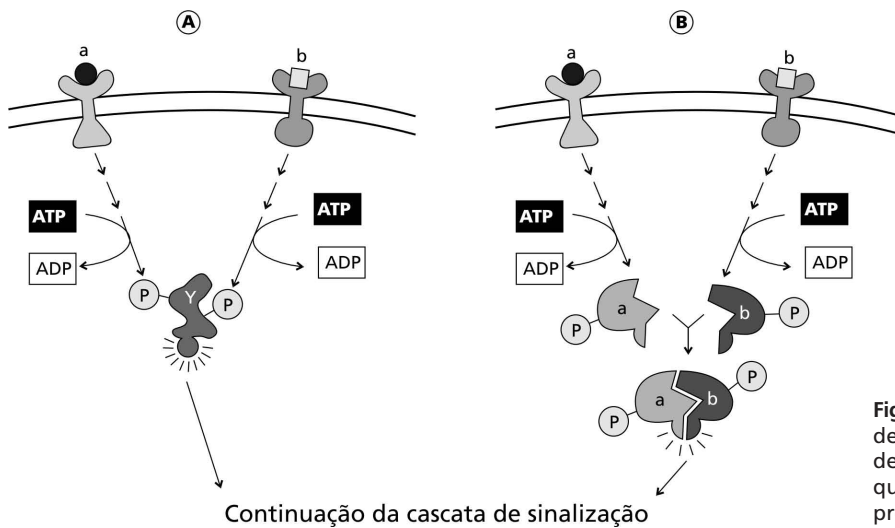
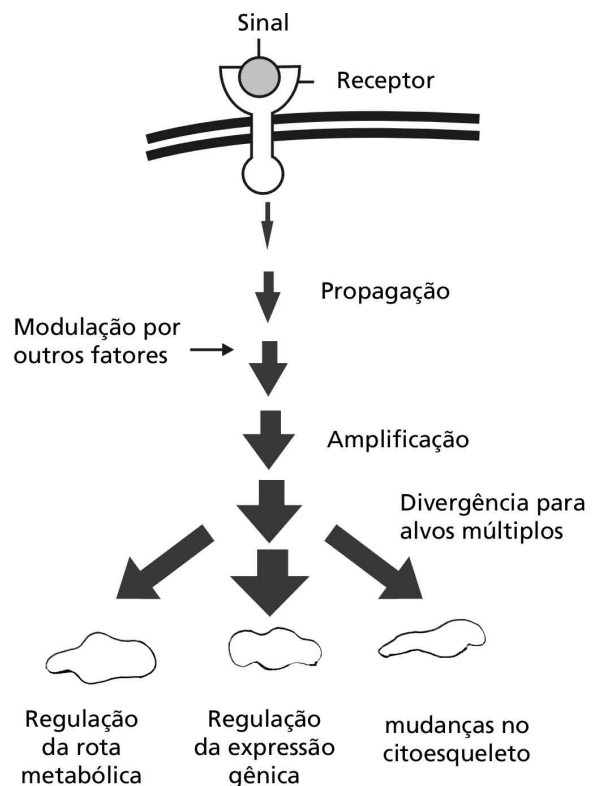


Figura 14.10: Alguns processos dependem da ativação inicial de duas cascatas de sinalização que convergem para um mesmo processo.

Figura 14.11: O mecanismo da propagação de sinais por receptores de superfície pode ser resumido nesse esquema: a partir do reconhecimento entre um receptor e um ligante, uma cascata de eventos se propaga e se amplifica.



RESUMO

- A ativação da proteína G ativa por sua vez adenilciclase ou fosfolipase C.
- Ambas geram mensageiros secundários: AMPc, no caso da adenilciclase, e IP3, que libera estoques intracelulares de cálcio, no caso da fosfolipase C.
- Ambos, cálcio e AMPc, são mensageiros secundários ou mediadores intracelulares.
- Mensageiros secundários ou mediadores intracelulares são sempre moléculas muito pequenas e presentes normalmente em baixíssima concentração, sendo degradados ou recolhidos imediatamente após o pico de sinalização.
- Receptores enzimáticos têm o sítio de reconhecimento voltado para o meio extracelular e o sítio catalítico voltado para o citoplasma. Na sua maioria são tirosina quinases que se fosforilam reciprocamente e depois atraem muitas outras proteínas que passam a informação adiante.
- Depois de receber o ligante, receptores disparam uma cascata de sinalização celular que amplifica o sinal e acaba por modificar o comportamento celular (Figura 14.11).

EXERCÍCIOS

1. Onde estão os receptores de ligantes pequenos e/ou hidrofóbicos?
2. E os de ligantes hidrofílicos?
3. Quais os tipos de receptores de superfície?
4. Cite exemplos de cada um desses receptores.
5. O que é uma proteína quinase?
6. Como age a adenilciclase? E a fosfolipase C?
7. O que são mensageiros secundários?
8. Como é regulada a concentração citoplasmática de cálcio?
9. O que é uma cascata de sinalização?
10. Qual a vantagem da sinalização em cascata?

Introdução às organelas celulares

AULA 15

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de :

- Comparar a organização celular de procariontes e eucariontes.
- Enumerar os compartimentos e organelas da célula eucarionte, associando-os às suas funções.
- Estabelecer as principais vias de comunicação entre os compartimentos celulares.

INTRODUÇÃO

Você está iniciando uma nova unidade na disciplina Biologia Celular. Até agora, vimos os principais métodos que permitiram o descobrimento e o estudo das células e a estrutura e principais funções desempenhadas pelas membranas celulares. A partir de agora, vamos tratar dos principais compartimentos delimitados por algumas membranas celulares e as funções desempenhadas por eles.

O que é um compartimento celular?

Chamamos compartimentos os espaços delimitados por membranas onde ocorrem funções celulares dependentes de proteínas específicas que para lá são endereçadas.

Uma organela é um compartimento?

Sim, as organelas são envolvidas por membranas e nelas ocorrem processos celulares específicos; isso as qualifica como um compartimento.

Tamanho e complexidade celular

Das primeiras formas de vida até os seres que hoje habitam nosso planeta, muito tempo se passou e muita coisa mudou. As condições climáticas e atmosféricas da Terra primitiva foram essenciais para que as primeiras formas de vida surgissem. Essas, acreditamos, seriam seres muito simples cujas principais características seriam o fato de serem limitados por uma membrana e conterem material genético (DNA) capaz de se autoduplicar, perpetuando as características daquele organismo por mais uma geração. *Erros* nesse processo de duplicação resultaram em mutações que respondem pela enorme diversidade de formas vivas que habitam nosso planeta. O detalhamento do processo de duplicação do DNA, e das falhas que podem ocorrer no mesmo, serão estudadas com maiores detalhes nas disciplinas de Genética e Evolução, embora alguns aspectos já tenham sido comentados em “Grandes Temas”.

Chamamos **procariontes** (*pro* = antes, *karyon* = núcleo) às formas de vida mais simples que conhecemos. São seres cujo tamanho varia entre 1 e 2 micrômetros e cujo DNA não se encontra num compartimento à parte, o **envoltório nuclear**, encontrado apenas nos **eucariontes** (*eu* = bem). As células eucariontes são também muito maiores do que as procariontes, medem em geral entre 10 e 50 micrômetros.

Os procariontes continuam a existir; são, portanto, um sucesso evolutivo inegável. São procariontes as **bactérias** e os **micoplasmas**. Os últimos são seres ainda mais simples que as bactérias e, em geral, parasitam outras células. As bactérias estão presentes em praticamente todos os pontos do planeta e em todos os níveis da cadeia alimentar. Existem bactérias fotossintetizantes e fixadoras de nitrogênio (produtores primários), outras são parasitas, simbiontes ou decompositoras (último nível da cadeia alimentar).

Vimos que todas as células, inclusive as bactérias, são limitadas por uma bicamada lipídica na qual se inserem proteínas, a **membrana plasmática**. Cabe à membrana plasmática definir os meios intra e extracelular e permitir a troca de informações e moléculas entre eles. No caso das bactérias (e também dos fungos e dos vegetais), além da membrana plasmática existe uma estrutura mais externa, a **parede celular**. Esta é formada por moléculas de natureza glicídica e, entre outras funções, sustenta e define a forma que essas células terão (**Figura 15.1**).

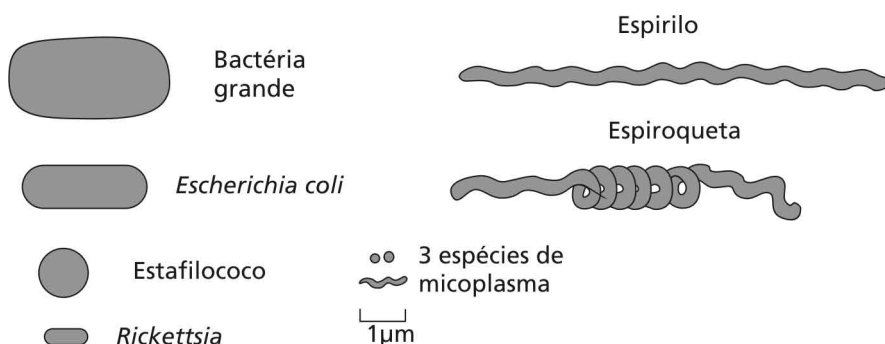


Figura 15.1: Variedade de formas e tamanhos relativos de vários procariontes.

Com sua forma e tamanho tão simplificados, a reprodução das bactérias é extremamente rápida. Em poucas horas, uma colônia bacteriana é capaz de recobrir a superfície de uma placa de agar nutritivo (ou algum alimento que você tenha deixado fora da geladeira). Outra vantagem do modelo procarionte é que, com dimensões tão diminutas, todos os pontos da célula estão sempre próximos entre si, com fácil acesso ao material genético (DNA) e à superfície; assim, o metabolismo e o equilíbrio celular são facilmente mantidos.

Em relação a essas qualidades todas, podem surgir as perguntas: com todas essas vantagens, por que a Terra não é toda dominada apenas por bactérias? Por que surgiram e foram tão bem-sucedidos evolutivamente os seres eucariontes unicelulares e, mais adiante, os pluricelulares?

Comparada à área de superfície dos procariontes, a das células eucariontes pode ser mais de 30 vezes maior (**Figura 15.2**). Se compararmos o volume, essa diferença pode ser até 10.000 vezes maior! Entretanto, enquanto a vida de um procarionte praticamente se resume em crescer e multiplicar-se, o aumento de tamanho permitiu a incorporação de uma série de funções aos seres eucariontes.

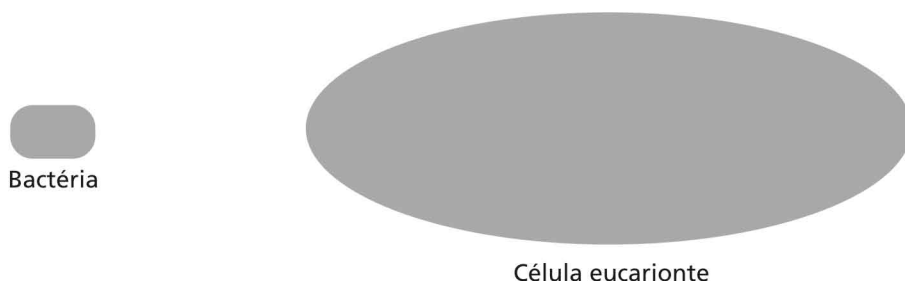
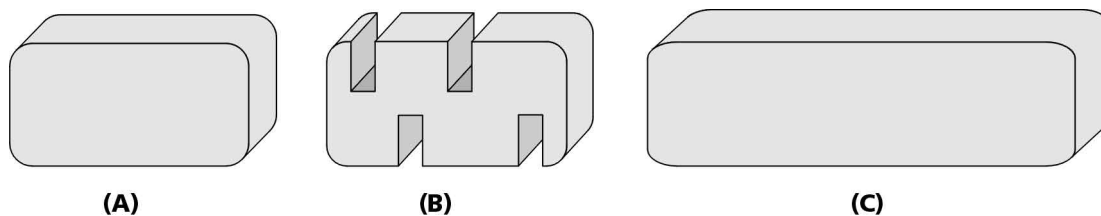


Figura 15.2: Tamanho de uma bactéria em relação a uma célula eucarionte.

Relacionadas a essas funções estavam proteínas associadas à membrana. Se todas as membranas e proteínas a elas associadas estivessem na membrana plasmática das nossas células, elas precisariam ter uma superfície ainda maior (veja o boxe).

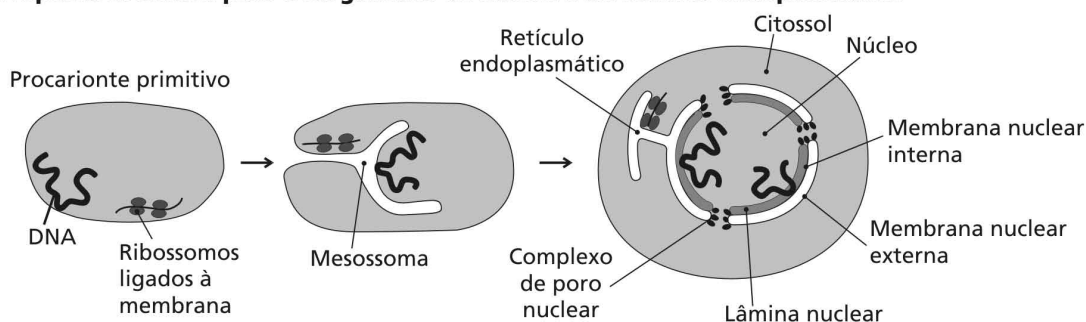
Organizar uma célula é como arrumar uma mala ou dobrar um pára-quadras: se as peças estiverem bem dobradas, vai caber muito mais coisas na sua mala. Quanto ao pára-quadras, ele pode ser comparado a uma célula em que todas as membranas foram unificadas numa só superfície. Enquanto estiver dobrado, será fácil transportá-lo; depois de aberto, aquela enorme superfície de tecido será bem difícil de levar.



As figuras **A** e **B** ocupam o mesmo volume, mas a **B** possui uma área de membrana bem maior. Se fosse esticada ocuparia o volume da figura **C**.

O que fazer com tanta membrana? No caso do pára-quedas, é claro que o mais prático é dobrá-lo e tê-lo acomodado numa bolsa ou mochila própria. Na evolução celular deu-se o mesmo. A solução foi a **internalização** da maior parte das membranas celulares, dando origem às organelas e aos compartimentos celulares. A membrana plasmática corresponde a apenas uma pequena fração (2 a 5%) do total de membranas de uma célula. Somente ficaram na membrana plasmática aquelas proteínas necessárias às funções de transporte, comunicação e adesão. A maior parte das membranas celulares (cerca de 50%) pertence ao retículo endoplasmático. Também existem evidências de que, no decorrer do processo evolutivo, algumas das bactérias ingeridas, em vez de serem digeridas, estabeleceram uma relação simbiótica com a célula predadora (**Figura 15.3**). Acredita-se que as mitocôndrias e os cloroplastos resultam de uma relação dessa natureza.

Proposta evolutiva para o surgimento do núcleo e do retículo endoplasmático



Proposta evolutiva para o surgimento das mitocôndrias

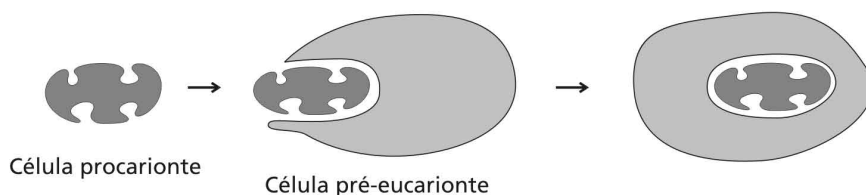


Figura 15.3: Duas formas possíveis de origem de compartimentos e organelas celulares.

Organização geral das células eucariontes

Em todas as células, podem ser definidos dois compartimentos: o meio intracelular e o meio extracelular. Na **Figura 15.4**, esses dois compartimentos estão representados em cores diferentes. Talvez seja uma surpresa para você verificar que os espaços internos do retículo endoplasmático, do complexo de Golgi e das vesículas que a célula secreta ou ingere são correspondentes ao meio extracelular. O meio intracelular se restringe àquilo que chamamos de citossol.

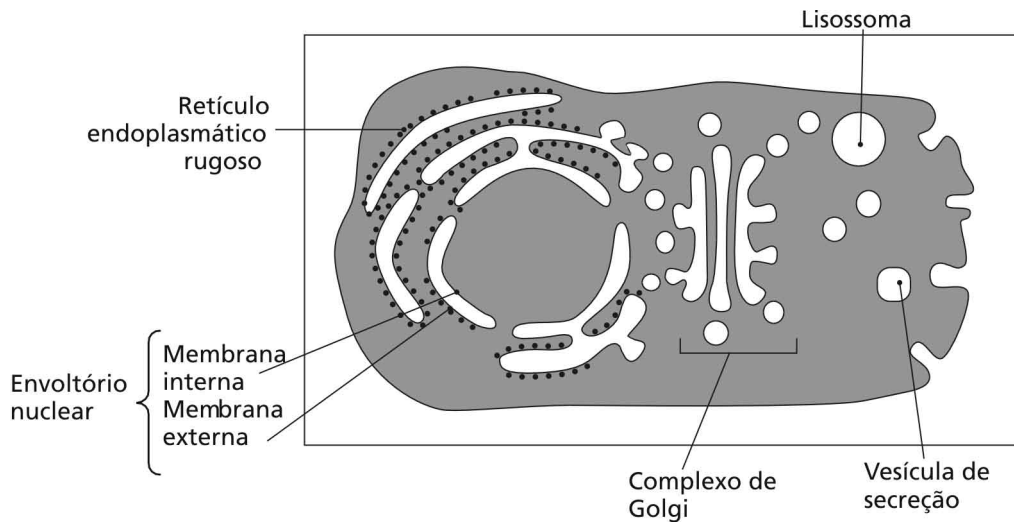


Figura 15.4: Esquema de uma célula onde estão coloridos em branco o meio extracelular e em cinza o meio intracelular.

Diferentes compartimentos, diferentes funções

Numa célula eucarionte *moderna*, as funções de síntese, captura de alimento, digestão, produção de energia e outras se distribuem por diferentes compartimentos, aos quais chamamos *organelas celulares*. Os principais compartimentos intracelulares de uma célula eucarionte são:

- núcleo;
- citossol;
- retículo endoplasmático (com as regiões lisa e rugosa);
- complexo de Golgi;
- mitocôndrias;
- plastídeos (cloroplastos);
- lisossomas;
- endossomas;
- peroxissomas.

Essas organelas estão apontadas na célula animal representada na **Figura 15.5**. Naturalmente, os plastídeos não estão representados, uma vez que são exclusivos das células vegetais.

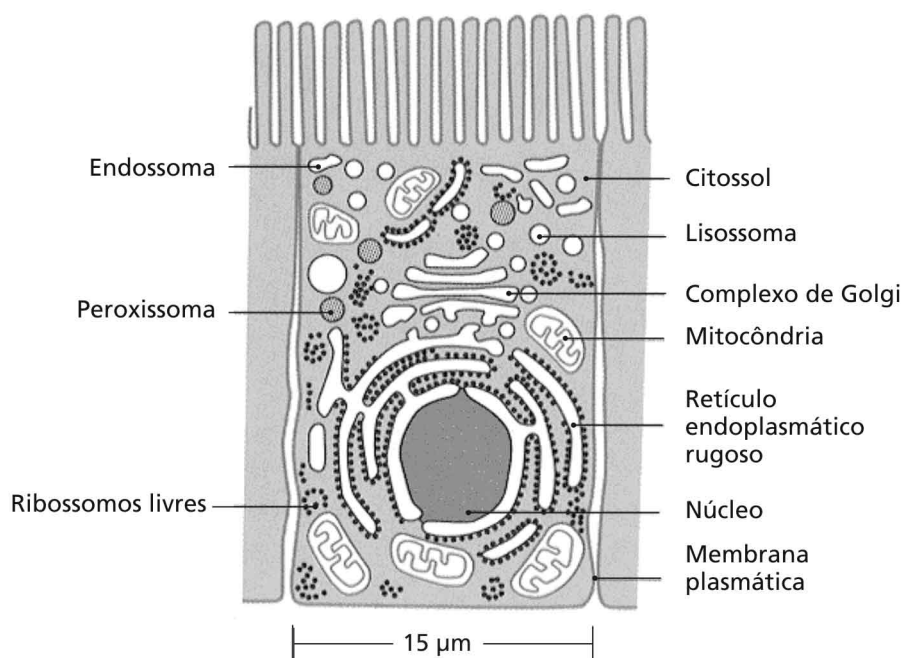


Figura 15.5: As células do epitélio intestinal possuem todas as organelas típicas de uma célula eucarionte.

Os diversos compartimentos celulares estão sempre enviando e recebendo informações uns para os outros. Essas informações são passadas por moléculas que tanto podem ser solúveis quanto inseridas em membranas. Essas moléculas são transferidas entre compartimentos por três mecanismos básicos:

1. Transporte através de comportas.
2. Transporte transmembrana.
3. Transporte vesicular.

Em seguida, faremos uma breve abordagem das principais características dos compartimentos celulares e sua interação com os demais.

O núcleo

É o compartimento que contém o genoma e o principal local de síntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA). O envoltório nuclear é duplo e a comunicação entre o núcleo e o citoplasma é feita através de complexos do poro, complexos protéicos que funcionam como comportas, regulando a passagem de moléculas para dentro e para fora do núcleo. As proteínas atravessam o complexo de poro já na sua forma enovelada. Isso quer dizer que a passagem pelo complexo de poro não depende apenas do tamanho da molécula, mas da existência de mecanismos de reconhecimento que funcionam como um passaporte para a entrada no núcleo. Esse é um transporte do tipo 1, através de comportas.

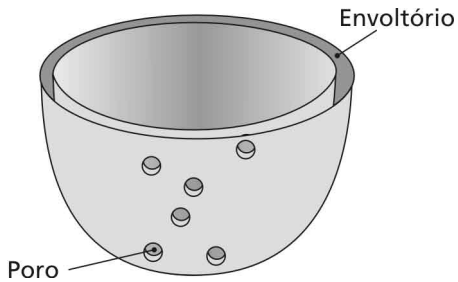


Figura 15.6: O envoltório nuclear é formado por duas membranas que são trespassadas por complexos de poro que atuam como comportas, selecionando o que entra ou sai do núcleo.

O citoplasma

O citoplasma é o maior compartimento celular. Corresponde a uma parte líquida, o **citossol**, e às **organelas** que nele se distribuem. No citossol, ocorrem tanto a síntese quanto a degradação de proteínas. A síntese de proteínas, você já sabe, ocorre nos ribossomos. Já a degradação ocorre nos **proteassomas**, os quais estudaremos nas próximas aulas. Muitas reações metabólicas (como a glicólise) também ocorrem nesse compartimento.

O retículo endoplasmático

Quase a metade do total de membranas de uma célula pertence ao retículo endoplasmático. O retículo forma uma rede contínua de membranas. Na superfície da membrana do retículo voltada para o citoplasma, aderem-se os ribossomos que participam da síntese de proteínas. Essas proteínas podem ser secretadas pelas células ou destinar-se às diversas organelas, e tanto podem ser solúveis quanto inseridas em membranas. Além das proteínas, também os lipídeos são sintetizados no retículo. As regiões do retículo nas quais ocorre a síntese de lipídeos são chamadas de **retículo liso**. As regiões onde os ribossomos podem se ancorar formam o **retículo rugoso**.

A proteína em formação passa para o interior do retículo endoplasmático por meio de proteínas translocadoras, características do transporte através de membrana. Esse processo também será detalhado nas aulas seguintes.

O complexo de Golgi

A maioria das proteínas precisa passar do retículo para o complexo de Golgi, onde será finalizada. Essa passagem é feita por vesículas que brotam das cisternas do retículo e se fundem ao complexo de Golgi. No complexo de Golgi, resíduos de açúcar são incorporados às cadeias protéicas, dando à proteína uma identidade que equivale a um endereço. Do Golgi, as proteínas partem em vesículas que se fundem à membrana das organelas às quais se destinam. Este é o tipo de transporte que chamamos vesicular.

O endereço de uma proteína é, na verdade, uma determinada sequência de aminoácidos chamada **sequência sinal**. As proteínas características de cada membrana ou compartimento celular possuem sequências sinal específicas que garantem o correto direcionamento das inúmeras proteínas sintetizadas pela célula.

Na **Figura 15.7**, estão representadas as principais vias de transporte entre os diversos compartimentos celulares. Nela, você pode observar que várias organelas (núcleo, mitocôndrias, peroxissomas, plastos) recebem proteínas sintetizadas no citossol, isto é, proteínas que são sintetizadas em ribossomos livres no citoplasma e que são transferidas diretamente para a organela, sem passar por processos de modificação ou endereçamento no interior do retículo ou das cisternas do complexo de Golgi.

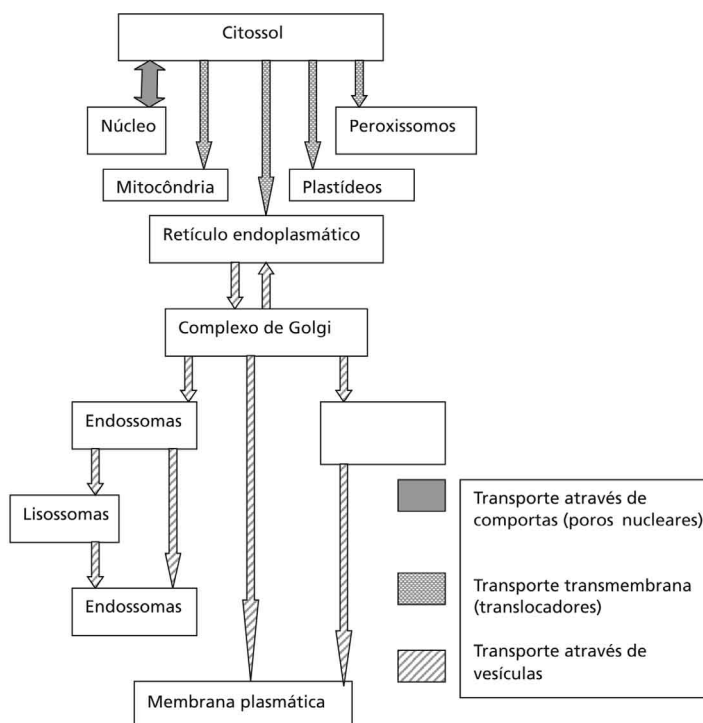


Figura 15.7: Mapa ilustrativo das vias de comunicação entre os compartimentos celulares.

RESUMO

- A maior parte das membranas de uma célula eucarionte se encontra internalizada, formando compartimentos.
- O núcleo, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, os endossomas e vesículas de secreção, além de lisossomas, mitocôndrias, peroxissomas e os plastídeos das células vegetais contêm, cada um, proteínas específicas, relacionadas às suas funções.
- Os diferentes compartimentos se comunicam, trocando moléculas e informações. As vias de comunicação de três tipos:
 - 1- através de comportas, como os complexos de poro do núcleo;
 - 2- através de proteínas transportadoras, como as existentes na membrana do retículo endoplasmático e das mitocôndrias;
 - 3- através de vesículas que brotam de um compartimento e se fundem a outro, o que ocorre entre as cisternas do retículo e do complexo de Golgi e a superfície celular.

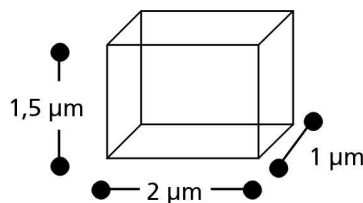
- Todas as proteínas começam a ser sintetizadas nos ribossomos livres do citossol.

De acordo com a sequência sinal de aminoácidos de cada uma, o ribossomo vai aderir, ou não, à membrana do retículo endoplasmático.

A partir da próxima aula, esses processos serão abordados com maiores detalhes.

EXERCÍCIOS

1. Quais os dois métodos pelos quais acredita-se que tenham se formado as organelas celulares?
2. Quais são os compartimentos de uma célula eucarionte?
3. A figura abaixo representa as dimensões lineares de uma bactéria. A partir dela calcule a área e o volume da mesma.



4. Agora considere uma célula de dimensões lineares dez vezes maior (15, 20 e 10 μm) e repita os cálculos. Qual a relação entre a área e o volume das duas células?
5. Considerando que a célula da questão 3 é uma bactéria e a da questão 4 um eucarionte, como o impacto desse aumento de volume pode ser minimizado?
6. Como entram no núcleo as moléculas que para lá se destinam?
7. Como é feito o transporte de proteínas sintetizadas no citoplasma e destinadas a organelas como mitocôndrias ou cloroplastos?
8. Como é feito o transporte de proteínas do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi e daí para a superfície celular?
9. Existe diferença entre ribossomas aderidos ao retículo e livres no citoplasma?
10. O que você entende por sequência sinal?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer a morfologia do retículo endoplasmático, em seus domínios liso e rugoso.
- Entender as funções do retículo endoplasmático, correlacionando-as com os diferentes domínios.
- Entender o mecanismo da síntese de proteínas solúveis para secreção e proteínas transmembrana.
- Entender o mecanismo de biogênese da bicamada lipídica que constitui as membranas celulares.

Pré-requisitos

Bioquímica I: conceito de aminoácido, peptídeo, proteína.

Biologia Celular I: estrutura de membrana, transporte ativo.

INTRODUÇÃO

Na aula anterior, vimos que aproximadamente metade do total de membranas totais de uma célula pertence ao retículo endoplasmático. O retículo forma uma rede contínua de membranas que ocupa boa parte do citoplasma na maioria das células. Se um corante fluorescente, que não atravessa as membranas (portanto não “vaza”), for injetado com uma agulha bem fina no lúmen do retículo, vai se espalhar por todo o espaço do lúmen, já que este é contínuo. Na **Figura 16.1** estão as fotos dessa experiência, e aí a gente passa a achar que o retículo merece mesmo esse nome!

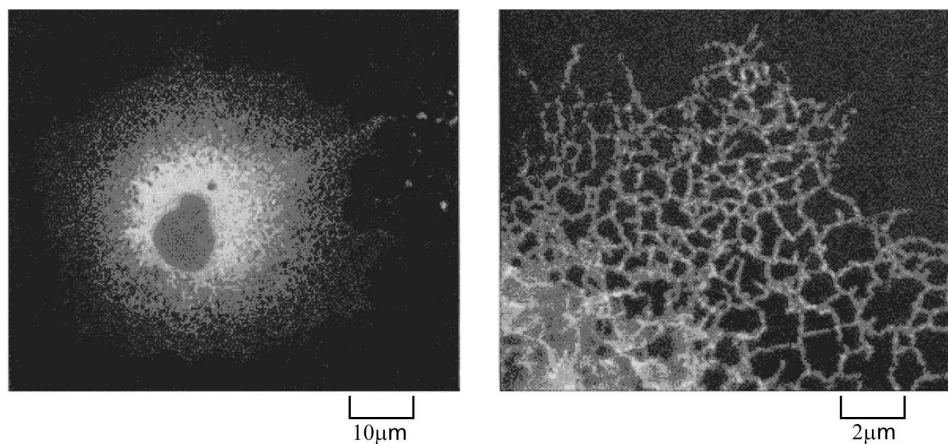


Figura 16.1: Uma célula de mamífero cujo retículo endoplasmático teve seu lúmen totalmente preenchido por um corante fluorescente. Na foto da direita, uma região da periferia da célula é mostrada em maior ampliação.

Foto: Hugh Pelham

A função mais conhecida do retículo é a síntese de proteínas de membrana e proteínas para secreção; entretanto, esta não é sua única função importante: a bicamada lipídica que constitui as membranas celulares também é montada por ele. Nas regiões do retículo que estão realizando síntese protéica (veja o box), ribossomos aderem à superfície voltada para o citossol. Esta região é chamada de retículo **rugoso** (**Figura 16.3**). Já a biogênese (montagem a partir de moléculas precursoras) de membranas ocorre em regiões desprovidas de ribossomos; esta região do retículo é chamada de retículo **liso**. Além dessas funções, o retículo também desempenha outras muito importantes, como o controle da homeostase de cálcio (você viu na Aula 14) e alguns processos de detoxificação.

O retículo e sua saúde

Na membrana do retículo endoplasmático liso de algumas células existem enzimas capazes de catalisar importantes processos de detoxificação. Elas modificam toxinas lipossolúveis, que podem, portanto, atravessar membranas, tornando-as solúveis em meio aquoso. Elas podem ser então excretadas pelas células e depois filtradas no rim. As enzimas mais importantes que fazem esse trabalho são as da família do citocromo P450.

Apenas recordando

Sabemos que todas as proteínas celulares são sintetizadas a partir de informações contidas no DNA. Para cada proteína é produzido, a partir do DNA, um filamento de RNA-mensageiro (RNAm), que é lido pelos ribossomos (Figura 16.2). Os ribossomos também são formados por RNA, mas do tipo ribossomal (RNAr). Conforme a fita de RNAm passa pelo ribossomo, aminoácidos trazidos por RNAt, ou transportador, são acoplados uns aos outros, formando a cadeia peptídica. A figura a seguir esquematiza as etapas do que é conhecido como “Dogma central da biologia molecular”.

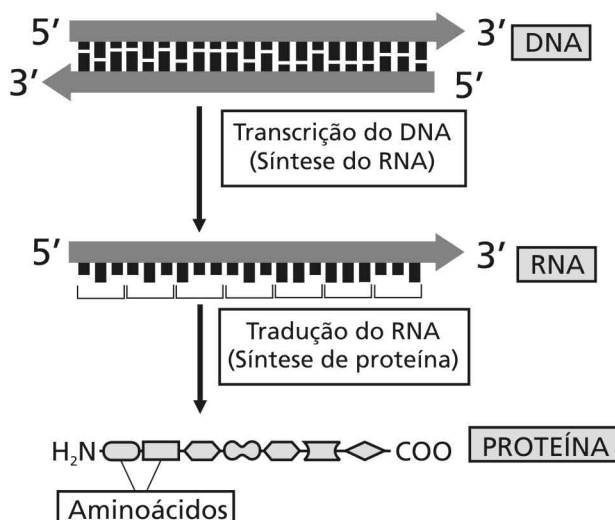


Figura 16.2: A informação contida no DNA é transmitida ao RNA na transcrição, que por sua vez serve de molde para a síntese de proteínas na tradução.

Morfologia e distribuição do retículo endoplasmático

As membranas do retículo formam um labirinto de túbulos e cisternas que se distribui por todo o citoplasma (Figura 16.3). A membrana externa do envoltório nuclear também é parte do retículo, como você estudará em Biologia Celular II.

O retículo é muito dinâmico e suas membranas estão constantemente se reorganizando. A rede de microtúbulos do citoesqueleto (você verá na Aula 23) contribui para o espalhamento e sustentação dessas membranas.

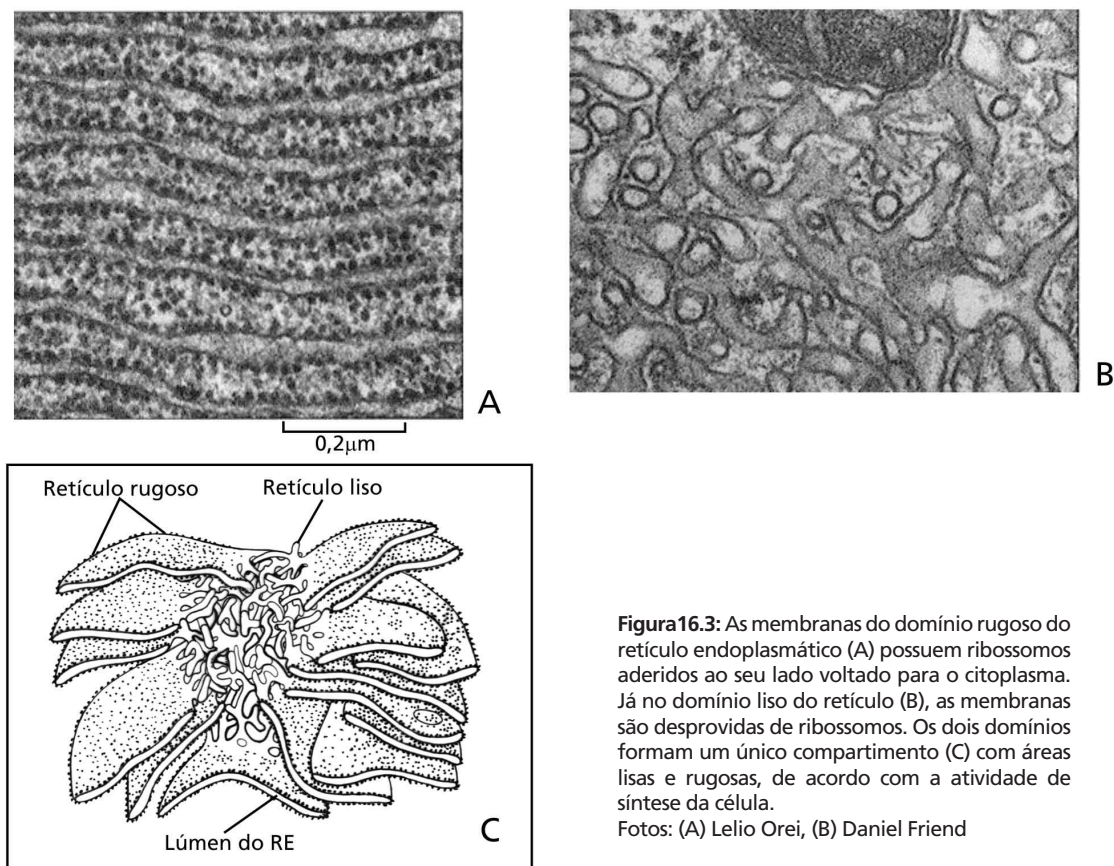


Figura 16.3: As membranas do domínio rugoso do retículo endoplasmático (A) possuem ribossomos aderidos ao seu lado voltado para o citoplasma. Já no domínio liso do retículo (B), as membranas são desprovidas de ribossomos. Os dois domínios formam um único compartimento (C) com áreas lisas e rugosas, de acordo com a atividade de síntese da célula.

Fotos: (A) Lelio Orei, (B) Daniel Friend

Todas as proteínas são sintetizadas no retículo?

Aprendemos, e aceitamos sem maiores questionamentos, que as proteínas que permanecerão solúveis no citossol e as que serão direcionadas para organelas como núcleo, mitocôndrias ou cloroplastos são sintetizadas em ribossomos livres, enquanto as proteínas da membrana plasmática, do próprio retículo e do complexo de Golgi, além daquelas que serão secretadas pela célula ou estocadas em compartimentos como os lisossomos, são sintetizadas em ribossomos aderidos ao retículo, formando o retículo rugoso. Cabe, então, perguntar: **Serão os ribossomos aderidos ao retículo diferentes daqueles livres no citossol? Não!** Todos os ribossomos de uma célula são idênticos e formados, como você sabe, por duas subunidades que se unem em torno do filamento de RNAm (Figura 16.4).

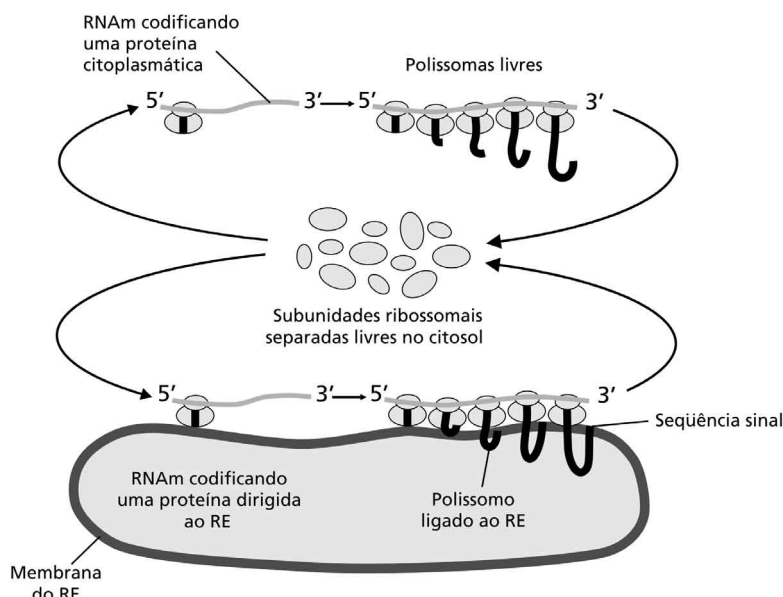


Figura 16.4: Os aminoácidos que compõem as proteínas são adicionados de acordo com a “leitura” (tradução) que os ribossomos fazem ao longo de uma fita de RNA mensageiro. A uma mesma fita podem associar-se muitos ribossomos (polirribossomo ou polissomo) que vão produzindo várias cópias da mesma proteína. Ao final da “leitura”, as subunidades ribossomais se separam e se incorporam ao conjunto de subunidades ribossomais livres no citosol.

Quando a síntese de uma proteína que precisa passar pelo retículo se inicia, os primeiros aminoácidos expostos fora do ribossomo constituem uma **seqüência sinal**. Essa seqüência então se liga a uma **partícula reconhecedora do sinal** ou **SRP** (do inglês *Signal Recognition Particle*). A membrana do retículo, por sua vez, possui um **receptor** para o conjunto seqüência de sinal (SRP) (**Figura 16.5**). A membrana do retículo possui também um receptor que forma uma âncora para adesão do ribossomo. A SRP interrompe a síntese das proteínas endereçadas ao retículo até que o ribossomo esteja acoplado à sua membrana. A partir do acoplamento, a cadeia protéica continuará sendo sintetizada para dentro do lúmen do retículo.

Como você sabe, uma cadeia protéica, mesmo ainda não enovelada, não pode atravessar diretamente uma bicamada lipídica. Quando o ribossomo vai se acoplar ao retículo, forma-se um canal hidrofílico transmembrana por onde a proteína nascente vai passar. Esse canal é formado por proteínas transmembrana que se agrupam apenas quando o ribossomo vai se acoplar. Esse canal hidrofílico recebe o nome de **translocon**. O ribossomo se ajusta no translocon, de modo que nada mais atravesse o canal além da cadeia protéica e nada vaze do lúmen do retículo para o citosol. O ribossomo permanecerá aderido até terminar de sintetizar a seqüência primária de aminoácidos da proteína. No final da síntese, a seqüência sinal é cortada por uma enzima específica. Concluindo, o que define se um ribossomo ficará livre ou aderido ao retículo é o tipo de proteína (com ou sem seqüência de sinal) que ele estiver sintetizando naquele momento.

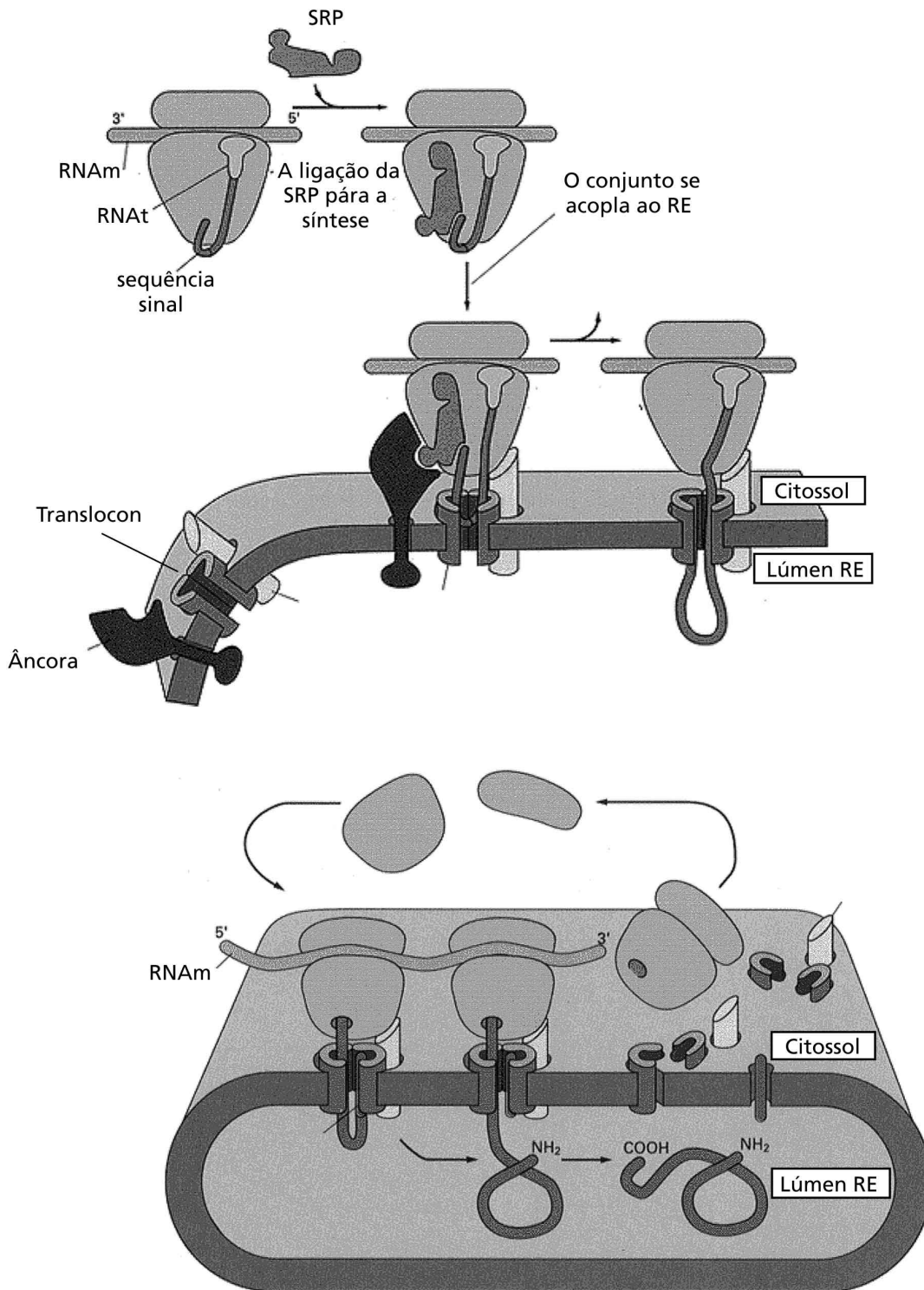


Figura 16.5: Quando uma proteína endereçada ao retículo começa a ser sintetizada, ela expõe uma sequência sinal que será reconhecida pela SRP. A SRP interrompe a síntese da proteína até ligar-se a uma proteína receptora na membrana do retículo. Assim, o ribossomo pode ligar-se ao complexo de translocação, por onde a cadeia polipeptídica penetrará. Ao fim da síntese da cadeia protéica, as duas subunidades do ribossomo se soltam da membrana do retículo e se separam, voltando ao estoque citoplasmático de ribossomos.

Que tipos de proteína são sintetizadas no retículo?

São sintetizadas no retículo proteínas **transmembrana**, isto é, aquelas que ficam inseridas na membrana plasmática, na membrana do complexo de Golgi, de organelas como os lisossomos ou do próprio retículo. Proteínas que ficarão **solúveis** em compartimentos, como as enzimas lisossomais, e proteínas que serão secretadas, como hormônios ou enzimas digestivas **também** são sintetizadas em ribossomos aderidos ao retículo endoplasmático.

Como uma proteína que está sendo sintetizada chega à luz do retículo?

Uma das principais características da sequência sinal é ser rica em aminoácidos hidrofóbicos, assim como a região da SRP à qual ela se liga. Uma vez que o ribossomo esteja aderido à membrana do retículo (através do receptor para SRP), a cadeia polipeptídica em formação se alinha ao **translocon** (Figura 16.6). Assim, conforme a proteína vai crescendo, vai penetrando diretamente na luz do retículo. A sequência sinal hidrofóbica, já livre da ligação à SRP, mantém a cadeia protéica ancorada à parte interna do translocon. Terminada a síntese da proteína, a sequência sinal é cortada enzimaticamente e a proteína fica livre no lúmen do retículo, a partir de onde terá início um processo de *acabamento* e endereçamento ao seu destino final.

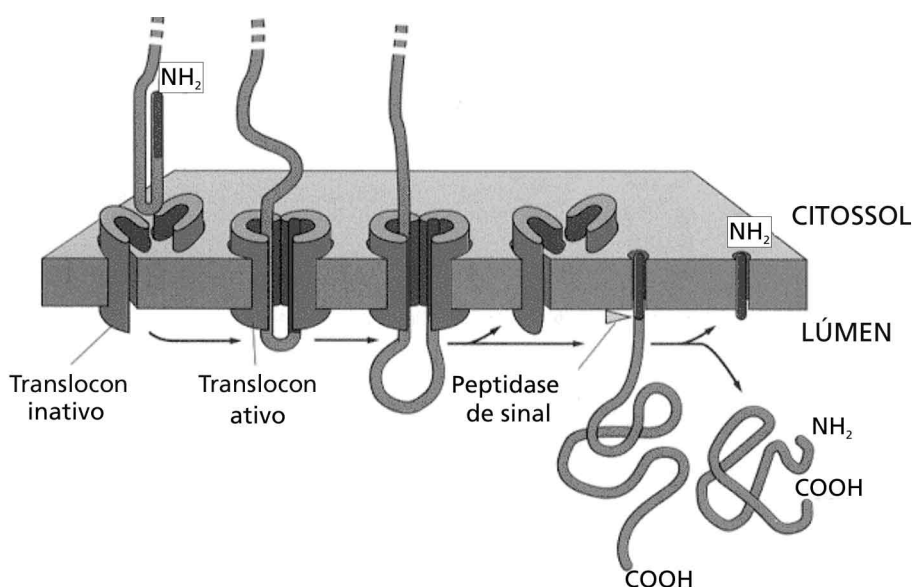


Figura 16.6: Mecanismo de translocação de uma proteína para o lúmen do retículo endoplasmático. Para que o esquema fique mais claro, os ribossomos e o RNAm foram omitidos, mas eles estão lá!

Problemas e soluções:

Como obrigar a cadeia polipeptídica a passar pelo complexo translocador?

A ligação da SRP à sequência sinal de transferência leva o ribossomo a se ancorar na membrana, *apontando* a cadeia polipeptídica na direção do poro do complexo translocador. Certamente, isso ajuda a direcionar a cadeia para dentro do retículo, mas o que obriga a cadeia nascente a passar pelo translocon é o seu próprio crescimento: à medida que o peptídeo vai sendo sintetizado junto ao ribossomo, a outra extremidade vai sendo translocada pelo poro.

Como as proteínas transmembrana atravessam a bicamada lipídica?

As proteínas que atravessam a bicamada lipídica possuem sequências ricas em aminoácidos hidrofóbicos no meio da cadeia primária de aminoácidos. Assim, além da sequência sinal inicial, que *prende* a proteína nascente ao translocon, uma segunda sequência hidrofóbica impedirá que a cadeia penetre integralmente através do poro aquoso, fazendo com que uma parte da proteína se projete para o citossol (**Figura 16.7**). Da mesma forma que no caso anterior, a sequência sinal inicial é clivada enzimaticamente ao fim do processo. É interessante notar que a sequência sinal inicial atua como um marco que sinaliza a transferência da cadeia protéica nascente para o lúmen do retículo, enquanto a segunda sequência hidrofóbica atua como um sinal de parada dessa transferência. O complexo translocador, por sua vez, *abre-se*, permitindo que essas sequências hidrofóbicas de início e interrupção da transferência fiquem em contato com a bicamada lipídica. Assim se insere na membrana uma proteína unipasso (**Figura 16.7**).

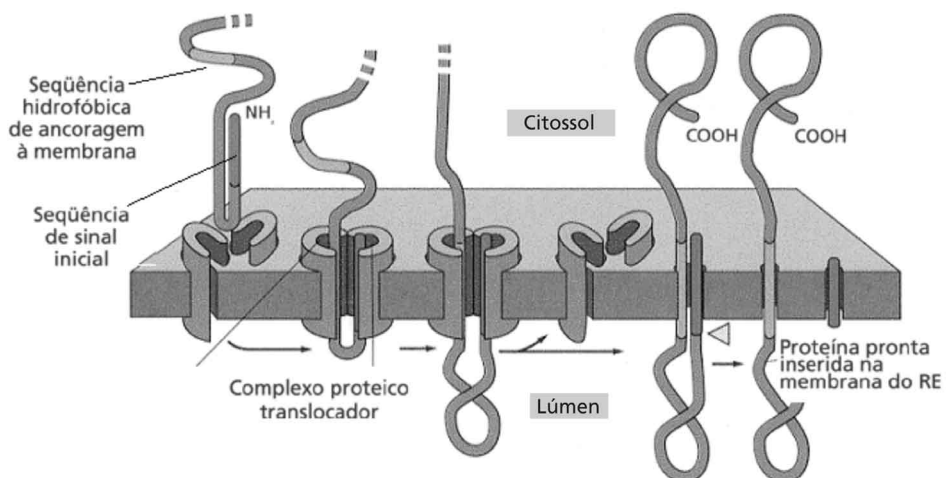


Figura 16.7: As proteínas transmembrana unipasso possuem, além da sequência sinal, um segmento da cadeia rico em aminoácidos hidrofóbicos que ficará em contato com a bicapa lipídica. O restante da cadeia primária de aminoácidos ficará exposto do lado da membrana voltado para o citossol. Ao final da síntese, a sequência sinal é clivada por uma enzima.

E as proteínas multipasso?

Entendido o processo de inserção de uma proteína unipasso, fica fácil imaginar como uma cadeia peptídica pode atravessar muitas vezes a bicamada lipídica, como fazem as proteínas multipasso (veja na Aula 8). Essas possuem seqüências de início e interrupção da transferência que se alternam ao longo da cadeia em crescimento (Figura 16.8).

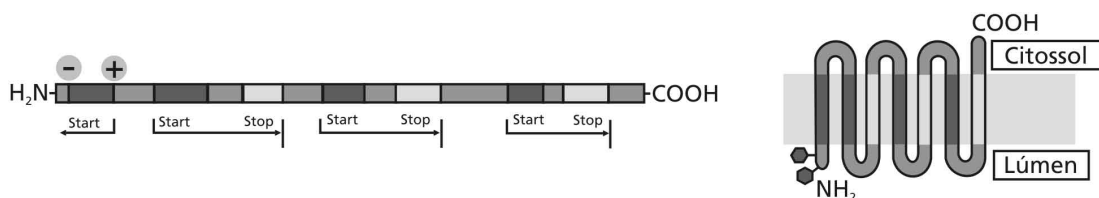


Figura 16.8: As proteínas multipasso alteram seqüência de início (*start*) e interrupção (*stop*) da transferência que resultam em muitas passagens pela membrana.

Detalhe importante:

Os processos de síntese e inserção de proteínas no retículo descritos até agora resultam em inserção da proteína pela extremidade NH_2 (amino), ficando a terminação COOH (carboxila) sempre voltada para o citossol. Não fique pensando que todas as proteínas são assim. Muitas têm a extremidade COOH voltada para o exterior e outras possuem as duas extremidades da cadeia voltadas para o mesmo lado da membrana. Isso acontece quando a seqüência de transferência está inserida no meio da cadeia peptídica, deixando de fora do retículo justo a extremidade NH_2 . A posição em que as seqüências de início e interrupção da transferência ocupam na cadeia em formação fará toda a diferença (Figura 16.9).

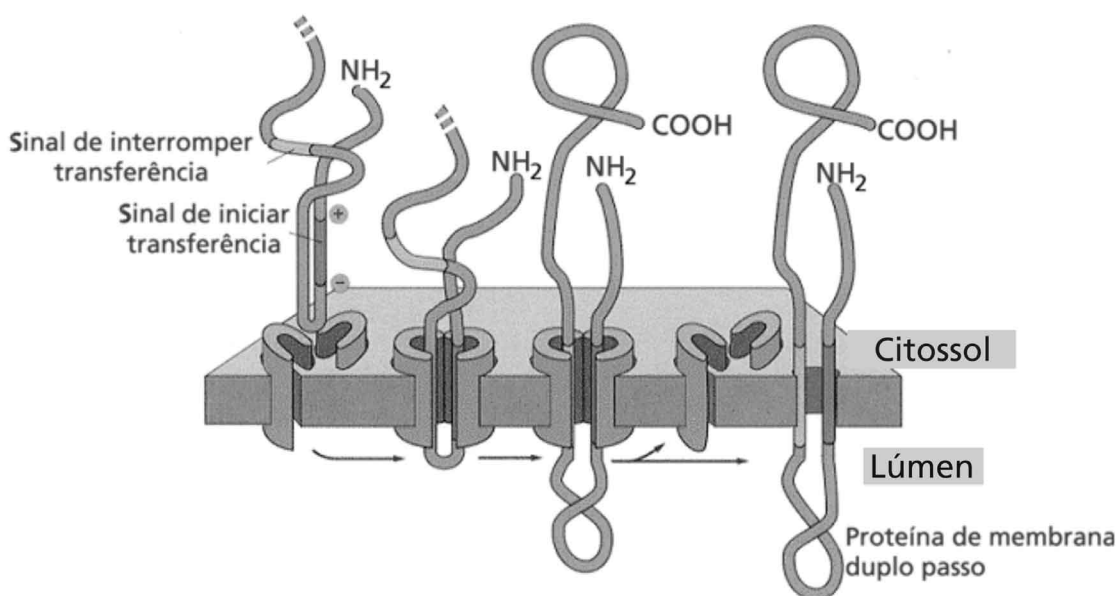


Figura 16.9: Formação de uma proteína duplo passo. Repare que, neste exemplo, a seqüência de iniciação (sinal inicial) não está na ponta da proteína, fazendo com que as duas extremidades da cadeia (amino e carboxila) fiquem voltadas para o mesmo lado da membrana, no caso, o citossol. O sinal de interromper a transferência é a segunda seqüência de ancoragem à membrana.

Terminada a síntese da cadeia polipeptídica primária, a proteína ainda não pode ser considerada pronta. As seqüências sinal, por exemplo, são clivadas e eliminadas da proteína final. Esse processo de *finalização* da proteína envolve várias proteínas auxiliares, responsáveis pelo correto dobramento da cadeia, a adição de açúcares e outros processos que serão detalhados na próxima aula.

O retículo liso e a biogênese da bicamada lipídica

Embora na maioria das células a superfície do retículo esteja quase todo o tempo associada a ribossomos, sendo, portanto, chamada de retículo rugoso, todos os lipídeos de todas as membranas celulares são associados no **retículo endoplasmático liso** (Figura 16.3 B, C).

Os termos **liso** e **rugoso** se referem a estados funcionais transitórios das membranas do retículo. O compartimento delimitado por essas membranas é único. Assim, podemos dizer que um retículo não é rugoso, ele **está** rugoso (a mesma coisa se aplica ao estado liso).

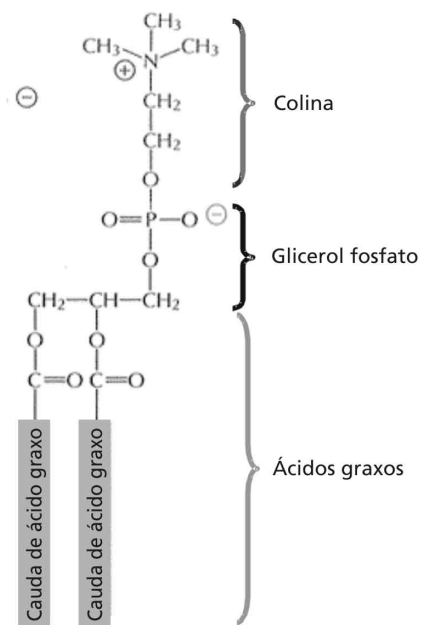


Figura 16.10: A fosfatidilcolina é formada por um conjunto de reações que reúne a colina, o glicerol fosfato e dois ácidos graxos numa única molécula.

Todas as enzimas responsáveis por catalisar a síntese de fosfolípidos se localizam na membrana do retículo do lado voltado para o citossol, onde estão as moléculas precursoras colina, glicerol fosfato e ácidos graxos (Figura 16.10). Com isso, todos os lipídeos sintetizados serão inicialmente adicionados ao lado da bicamada voltados para o citossol. Se lembrarmos que uma membrana é uma bicamada lipídica em que as quantidades de lipídeo em cada camada é equivalente, assim como as áreas ocupadas por eles, no retículo liso deveria haver um desequilíbrio entre as duas camadas (Figura 16.11).

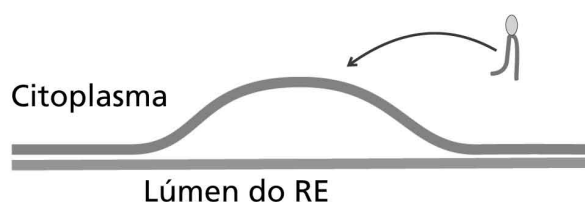


Figura 16.11: Desequilíbrio de área hipotética das camadas do retículo endoplasmático liso quando da montagem da membrana (se você já leu *O Pequeno Príncipe*, de Antoine Saint-Exupéry, certamente lembrou da cobra que engoliu o elefante...).

Esse desequilíbrio de área que teoricamente deveria existir nunca foi realmente observado. Assim, acredita-se que ele é muito rápido, sendo imediatamente corrigido por uma enzima chamada **scramblase** (veja o boxe), capaz de *flipar* um fosfolípidio, translocando-o para a face da membrana voltada para a luz do retículo (Figura 16.12).

O fosfolípidio sintetizado em maior quantidade é a **fosfatidilcolina** (Figura 16.10). Essa é produzida pela adição de colina a duas cadeias de ácido graxo e uma molécula de glicerol fosfato.

Humor e ciência

Quem acha que os cientistas são pessoas sisudas, que encaram a ciência como *coisa muito séria, com a qual não se brinca*, está muito enganado. Um exemplo de como se pode fazer ciência séria sem perder o senso de humor é a enzima **scramblase**. Ao ser *batizada*, seus descobridores compararam sua atividade à do cozinheiro que vira um ovo na chapa para que frite dos dois lados. São o que chamamos de ovos mexidos, para os pesquisadores de língua inglesa: *scrambled eggs*.

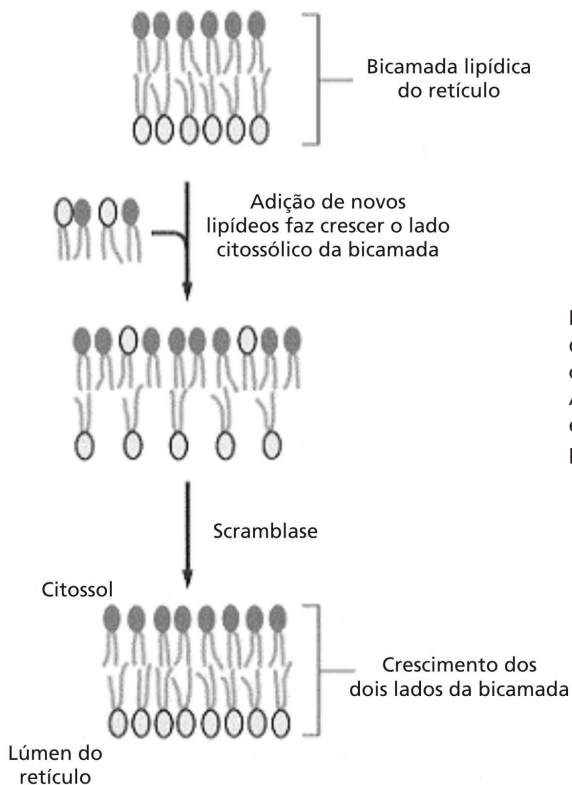


Figura 16.12: Novos lipídeos são adicionados sempre do lado da membrana do retículo voltado para o citossol. Com isso, só esse folheto tenderia a crescer. A distribuição de lipídeos entre os dois folhetos é equilibrada pela enzima *scramblase*, que os distribui pelos dois folhetos da bicamada lipídica.

Outros lipídeos, como a fosfatidiletanolamina, a fosfatidilserina e o fosfatidilinositol, são sintetizados e acrescentados à membrana dessa mesma forma.

A ação da *scramblase* tende a equilibrar o número de moléculas em cada folheto da bicamada e a homogeneizar os dois lados da bicamada, *flipando* os diversos tipos de fosfolipídeos aleatoriamente. Entretanto, conforme comentamos na Aula 7, a bicamada lipídica da membrana plasmática é assimétrica, isto é, alguns tipos de lipídeos só são encontrados na face voltada para o citossol, enquanto outros só existem no folheto voltado para o meio extracelular (**Figura 16.13**).

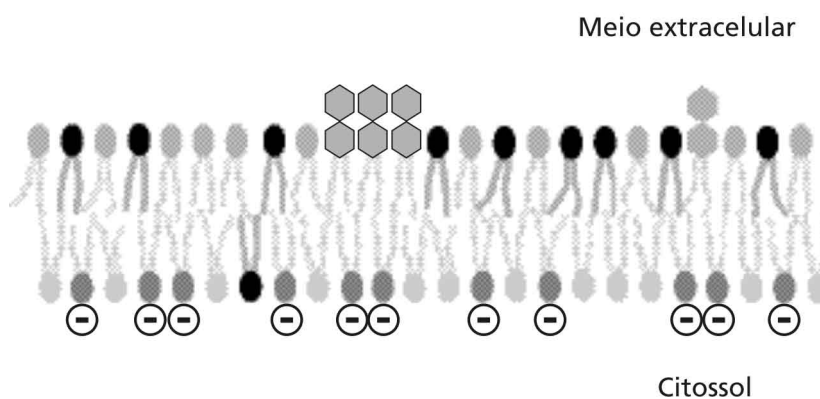


Figura 16.13: Assimetria da bicamada lipídica: a fosfatidilserina (negativa) só existe no lado voltado para o citossol, e os glicolipídeos (hexágonos), só no lado externo.

Essa assimetria resulta de uma outra classe de enzimas, as **flipases**. As flipases atuam na membrana plasmática e, seletivamente, *viram* fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina do folheto externo para o folheto voltado para o citossol. Enquanto as flipases gastam energia para realizar a transferência de fosfolipídeos entre os folhetos da bicamada, as scramblases se valem da própria energia da síntese.

A incorporação de **colesterol** à membrana também ocorre no retículo liso. A maioria do colesterol vem pronto na dieta e só precisa ser disponibilizado (aguarde a Aula 20). Ele é sintetizado em apenas algumas células animais, principalmente hepatócitos. Apenas uma pequena parte é inserida na membrana do retículo liso. A maior parte é secretada em associação com moléculas hidrofílicas, servindo de precursor para vários outros esteróis. Nessas células, o domínio liso do retículo é muito mais abundante.

O retículo também é responsável pela síntese de outros lipídeos. Entre os mais importantes temos as **ceramidas**, que são depois enviadas para o complexo de Golgi (próxima aula), onde servem de precursoras de **glicosfingolipídeos** e a **esfingomiélin**.

A membrana plasmática, a dos lisossomos, do complexo de Golgi, dos endossomos e a própria membrana do retículo são todas sintetizadas por ele. Além disso, mitocôndrias e peroxissomos também dependem de lipídeos que são inicialmente sintetizados no retículo e transferidos por proteínas transportadoras específicas para as membranas dessas organelas (**Figura 16.14**). A partir dessa incorporação essas organelas crescem, podendo depois se dividir.

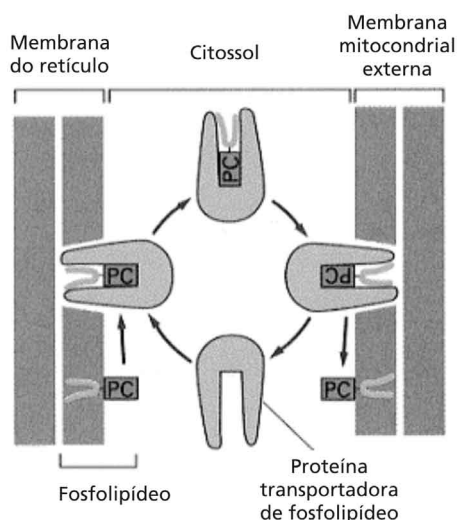


Figura 16.14: Mecanismo de importação de fosfolipídeos para a membrana mitocondrial.

Como o material sintetizado sai do retículo endoplasmático?

As novas proteínas, solúveis no lúmen do retículo ou as transmembrana, inseridas na membrana do retículo, saem dessa organela em vesículas. Essas vesículas não partem de qualquer lugar do retículo. Parece haver uma região de saída, os **elementos transicionais**, uma área do retículo onde se misturam os domínios liso e rugoso, capaz de fazer brotamento de vesículas, que se dirigem então ao complexo de Golgi e daí para outros compartimentos. Nós vamos junto com elas!

RESUMO

- O retículo endoplasmático é uma rede contínua de membranas, ocupando a maior parte do citoplasma, e tem domínios liso e rugoso.
- Dentre as mais importantes funções do retículo endoplasmático estão a síntese de proteínas de membrana e para secreção, no domínio rugoso; a biogênese da membrana, no domínio liso, e a manutenção da homeostase de cálcio.
- Os ribossomos que fazem a síntese de proteínas no citoplasma e os que fazem a síntese associados ao retículo são os mesmos, o que muda são as características da cadeia protéica que está sendo sintetizada.
- Os primeiros aminoácidos da cadeia peptídica das proteínas que devem ser sintetizadas para dentro do retículo formam uma seqüência sinal que é reconhecida por um receptor citoplasmático (SRP) que dirige o ribossomo para o retículo.
- No final da síntese, a seqüência sinal é cortada da cadeia protéica, que fica solta no lúmen do retículo.
- Proteínas transmembrana, além da seqüência de sinal que as dirige ao retículo, têm uma seqüência hidrofóbica de ancoragem que as prende à bicamada lipídica.
- As membranas plasmática e dos compartimentos que se comunicam, como retículo, complexo de Golgi, endossomos e lisossomos, são montadas no retículo endoplasmático liso. Nesse processo, a membrana preexistente aumenta de extensão porque a elas são acrescentados novos fosfolipídeos, sintetizados a partir de precursores citoplasmáticos.
- Como os novos fosfolipídeos são todos acrescentados ao lado citosólico da membrana do retículo liso, metade dos fosfolipídeos é translocada para o outro lado por scramblases.
- Já na membrana plasmática, enzimas mais específicas, as flipases, translocam seletivamente fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina para o folheto citosólico.
- Os fosfolipídeos das membranas de mitocôndrias e peroxissomos são transportados um a um, a partir do retículo liso para a organela a que se destinam.

EXERCÍCIOS

1. Quais as funções do retículo endoplasmático?
2. Por que dizemos que o retículo não é rugoso e, sim, que está rugoso?
3. Qual a diferença entre ribossomos aderidos ao retículo e livres no citoplasma?
4. Como a sequência de endereçamento é reconhecida?
5. Se os ribossomos aderem ao lado citoplasmático da membrana do retículo como a proteína vai separar dele?
6. Como as proteínas transmembrana atravessam a bicamada lipídica?
7. Qual o destino da sequência sinal que direciona a proteína para o retículo?
8. Como se formam as proteínas multipasso?
9. Como são sintetizadas as bicamadas lipídicas?
10. Como é feita a importação de lipídeos para a membrana mitocondrial?

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Identificar os principais aspectos morfológicos do complexo de Golgi.
- Listar as funções do complexo de Golgi.
- Diferenciar os processos de glicosilação do tipo N e do tipo O.
- Explicar como o processo de glicosilação é ordenado através das diferentes lamelas do Golgi.

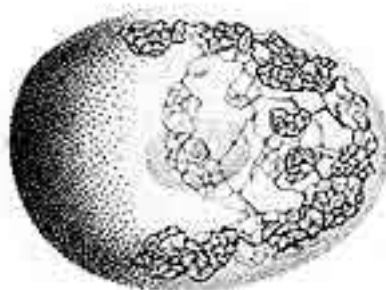
INTRODUÇÃO

Na última aula, vimos como uma membrana nova é produzida no retículo endoplasmático, pela montagem da bicamada lipídica no domínio liso e inserção de proteínas no domínio rugoso, novas membranas são produzidas no retículo endoplasmático. No retículo também são sintetizadas proteínas solúveis destinadas ao meio extracelular. Mas, além de lipídeos e proteínas, uma membrana também possui açúcares ligados a proteínas ou lipídeos. Onde são acrescentados esses componentes? O que faz com que na membrana plasmática eles estejam voltados apenas para o meio extracelular? Como as novas membranas saem do retículo endoplasmático?

Começando a responder tantas perguntas: no fim da última aula, vimos que o material que sai do retículo, proteínas solúveis ou transmembrana e a própria membrana, é transportado por vesículas e túbulos que brotam da região do retículo conhecida como elementos transicionais. Tais vesículas e túbulos se dirigem ao complexo de Golgi sem, no entanto, formar com ele uma conexão permanente.

Um pouco de História

O complexo de Golgi foi descrito pela primeira vez por Camillo Golgi em 1898, graças a um novo tipo de coloração histológica para neurônios usando metais pesados que ele havia criado. No trabalho original, o complexo de Golgi está esquematizado como uma rede dentro de um terminal nervoso. Camillo Golgi e Ramón-Cajal, dois neuroanatomistas, ganharam o prêmio Nobel em 1906 pela criação desse método de coloração, conhecido como método de Cajal, que permitiu mostrar que o sistema nervoso central é formado por células individualizadas e não por uma rede contínua. A própria existência do complexo de Golgi foi considerada duvidosa até 1954, quando sua organização foi descrita por microscopia eletrônica. Alguns detalhes desta organização são desconhecidos até hoje.



Camillo Golgi, (à esquerda), Ramón-Cajal (no centro) e um dos esquemas originais do "aparato reticolare" observado por Golgi (à direita).

Organização morfológica

Assim como o retículo endoplasmático, geralmente existe apenas um complexo de Golgi por célula. Diferente do retículo endoplasmático, com sua rede contínua de túbulos, o complexo de Golgi é formado por **lamelas** (ou cisternas) que não são contínuas (**Figura 17.1**). No conjunto, elas se arranjam como uma pilha de pratos ou, comparação ainda melhor, como vários pães árabes empilhados. Olhando mais atentamente, há perfurações nas lamelas, como se os pães tivessem buracos não alinhados. De cada lado da pilha há uma rede de túbulos. Todas essas informações decorrem da observação em microscopia eletrônica de transmissão de muitos cortes da organela e reconstrução tridimensional a partir desses cortes (relembre a **Figura 3.2**).

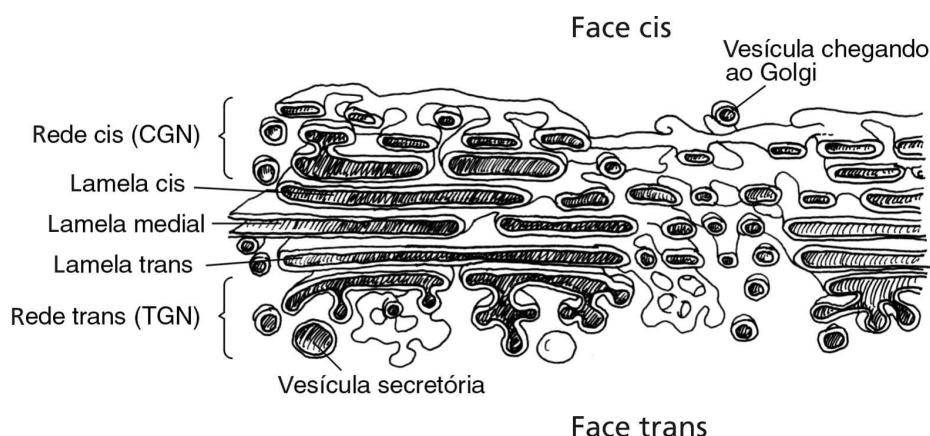


Figura 17.1: Esquema da organização tridimensional do complexo de Golgi.

As vesículas que trazem material do retículo se incorporam à primeira rede de túbulos do Golgi e daí atingem a primeira lamela. O complexo de Golgi é muito polarizado, isto é, tem uma face diferente da outra. As vesículas que vêm do retículo sempre se incorporam ao Golgi pelo mesmo lado. Esse lado de “entrada” do Golgi, que recebe material do retículo, é chamado lado (ou face) **Cis**, enquanto a outra extremidade, mais distante do retículo, o lado de “saída” do Golgi, é o lado (ou face) **Trans**. O número de lamelas entre uma extremidade e outra varia de célula para célula, mas obedece a uma configuração mínima formada por:

- rede cis do Golgi, ou CGN,
- lamela cis,
- lamela medial,
- lamela trans e
- rede trans do Golgi, ou TGN.

Olhando fotos (**Figura 17.2**) e desenhos (**Figura 17.1**) do complexo de Golgi, a gente fica intrigado imaginando como aquelas lamelas permanecem tão arrumadinhas! Ainda não há resposta bastante convincente para essa pergunta, mas os pesquisadores apostam na existência de proteínas que formem pontes entre as lamelas, mantendo-as próximas umas das outras.

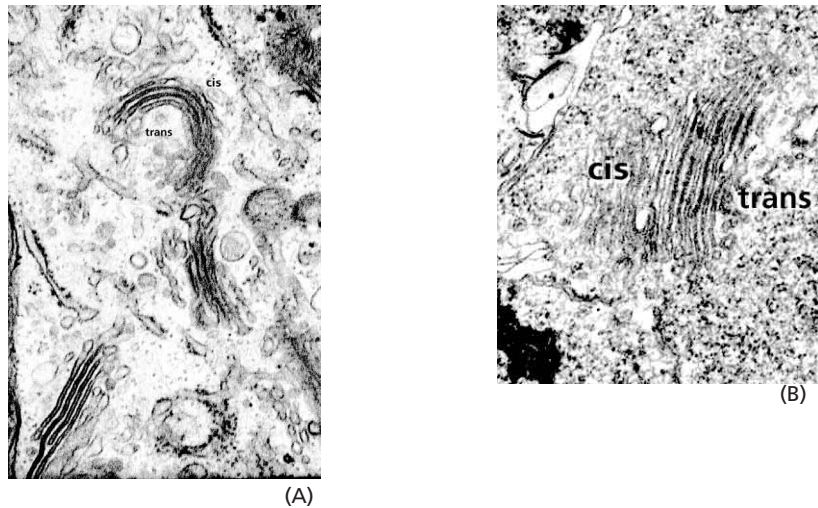


Figura 17.2: Micrografias de complexo de Golgi em uma célula animal (A) e na Euglena (B). As lamelas estão empilhadas e podemos ver a rede de túbulos cis e trans.
Fotos: Márcia Attias

Além disso, o complexo de Golgi não fica em qualquer lugar do citoplasma, mas sempre na região central da célula, próximo ao envoltório nuclear (Figura 17.3). O que será que o “prende” lá? A resposta tem a ver com o citoesqueleto. Essa curiosidade você vai ter de segurar até a Aula 23!

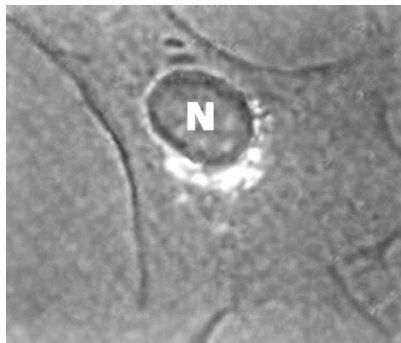


Figura 17.3: Foto de microscopia óptica mostrando um fibroblasto em contraste de fase e o complexo de Golgi marcado por um anticorpo que reconhece uma proteína residente do Golgi. N, núcleo.

Foto: John Henley e Mark McNiven

As lamelas do Golgi estão organizadas, mas certamente não por razões estéticas! Depois de conhecer um pouco sobre as funções dessa organela, você vai perceber que se não fosse tão ordenada ela não ia funcionar direito.

Funções

O complexo de Golgi tem três funções principais:

a) realizar a **glicosilação**, isto é, adicionar açúcares a proteínas e lipídeos que foram sintetizados no retículo endoplasmático, assim modificando-os;

b) adicionar grupamentos sulfato a proteínas, participando da síntese de proteoglicanas;

c) distribuir as macromoléculas provenientes do retículo endoplasmático e que percorreram o complexo de Golgi entre três possíveis destinos:

1. a membrana plasmática, onde tais moléculas se incorporarão ou serão secretadas;

2. vesículas de secreção que se acumulam no citoplasma esperando um sinal para exocitarem seu conteúdo;

3. lisossomos, onde formarão a própria membrana da organela ou terão papel na digestão intracelular.

Você vai saber mais sobre a função de distribuição de macromoléculas nas Aulas 20 e 21, ainda neste módulo. Nesta aula vamos nos deter mais na função de adição de açúcares.

Glicosilação

Chamamos de glicosilação ao processo de acrescentar monômeros de açúcar a proteínas e lipídeos, formando glicoproteínas e glicolipídeos, apesar de os monômeros adicionados não serem apenas glicoses.

Muito cuidado também quando for falar ou escrever glicosILAção, porque é fácil confundir com glicolISAção, uma maneira rara de denominar a glicólise, que é a via metabólica citoplasmática de produção de ATP a partir de glicose.

O objetivo desta disciplina não é ensinar bioquímica de açúcares; assim, vamos nos deter apenas no processo de glicosilação de proteínas, que permite demonstrar como a organização do complexo de Golgi é importante para o funcionamento da organela e da célula.

Existem dois tipos de glicosilação de proteínas, o tipo N e o tipo O. Dentre os dois tipos, vamos conhecer melhor a glicosilação do tipo N. Veja na **Tabela 17.1** o quadro comparativo das principais semelhanças e diferenças entre os dois tipos.

Tabela 17.1: Tipos de Glicosilação de proteínas.

Tipo de glicosilação	N	O
Local de início	Retículo endoplasmático (co-traducional)*	Complexo de Golgi (pós-traducional)**
Local de finalização	TGN	TGN
Aminoácido a que é adicionado o primeiro açúcar	Asparagina (no nitrogênio, daí o nome)	Serina ou treonina (no oxigênio, daí o nome)
Último açúcar da cadeia	Ácido siálico	Ácido siálico

* Os açúcares são adicionados enquanto a cadeia de aminoácidos que forma a proteína ainda está sendo montada.

** Os açúcares são adicionados à cadeia de aminoácidos já completamente montada.

Por que adicionar açúcares a proteínas?

Como você pode ver na **Tabela 17.1**, os açúcares começam a ser adicionados à cadeia protéica quando ela ainda está sendo sintetizada, o que, sem dúvida, interfere muito na conformação final da proteína. Uma cadeia de açúcares é bastante mais polar e mais rígida que uma cadeia de aminoácidos. Depois de receber uma cadeia de açúcares, a asparagina jamais ficará voltada para dentro da cadeia na conformação final. Assim, a adição de uma cadeia de açúcar, mesmo pequena, obriga a proteína a assumir determinada conformação. Além disso, uma glicoproteína, seja do tipo N ou do tipo O, estará mais protegida da ação de proteases do que uma proteína não glicosilada, por uma questão de acesso das enzimas proteolíticas à cadeia protéica. Muitas das proteínas que ficam expostas na superfície da célula são glicosiladas, o que protege a membrana plasmática como um todo.

É interessante comparar a montagem de uma cadeia de açúcares com a montagem de uma cadeia de proteína ou mesmo com cadeias de DNA e RNA. Todas são polímeros montados a partir de monômeros e quase todos, menos os açúcares, seguem um mecanismo de cópia quando são montados. Na replicação, a cadeia nova de DNA é sintetizada seguindo a complementaridade de bases nitrogenadas A-T e C-G em relação à cadeia preexistente; na transcrição, o mesmo pareamento, A-U e C-G, faz do RNA cópia fiel do segmento de DNA; na tradução, é a vez de o RNA servir de “receita” para a síntese da cadeia protéica (veja o box).

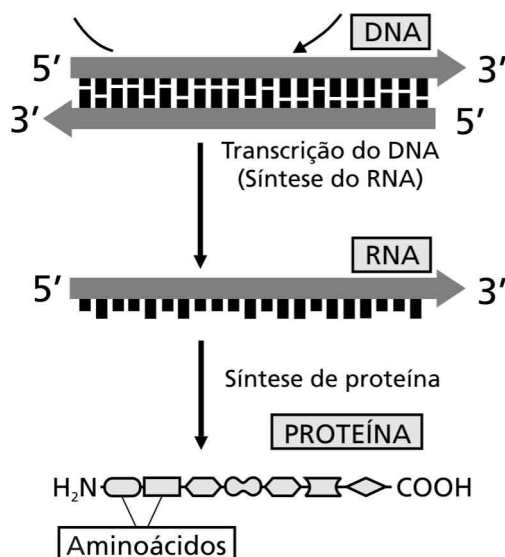


Figura 17.4: O DNA serve de molde para sua própria duplicação, assim como para a síntese do RNA. Este RNA, por sua vez, servirá de molde para a adição ordenada de aminoácidos numa cadeia protéica. Você já viu esse esquema na Aula 16.

Como você notou, então, os processos de síntese das macromoléculas mais importantes seguem um “molde”, com o objetivo de conservar a informação, diminuindo ao máximo a ocorrência de erros. Já na glicosilação, em que uma cadeia ramificada de pelo menos 14 açúcares (que costumamos chamar de árvore de açúcar, por causa das ramificações) é montada, não existem moldes a seguir! Será que não é tão importante evitar a ocorrência de erros? Se considerarmos que a porção glicídica de glicoproteínas e glicolípideos serve de receptor específico a muitos ligantes importantes, atua na adesão das células e no reconhecimento celular, certamente temos de admitir que é importante que essas árvores de açúcar estejam montadas sem erros.

Glicosilação do tipo N

Qual será o mecanismo que garante que a árvore glicídica seja corretamente montada? Para começar, se a cada vez que uma asparagina aparecer na cadeia protéica nascente no lúmen do retículo endoplasmático, os 14 açúcares fossem acrescentados um de cada vez, seria uma correria de enzimas! Daí para a ocorrência de erro é um pulo! O que ocorre é que a árvore é pré-montada e fica pendurada, como em um cabide, num fosfolípídeo da membrana do retículo, esperando a asparagina aparecer (**Figura 17.5**). A pré-montagem da árvore no retículo endoplasmático funciona como uma linha de montagem de fábrica: a enzima que acrescenta o primeiro açúcar reconhece o fosfolípídeo, a que coloca o segundo açúcar reconhece o fosfolípídeo mais o primeiro açúcar, a enzima que coloca o terceiro só reconhece como substrato o conjunto fosfolípídeo mais o primeiro e o segundo açúcares e assim por diante. Dizendo de uma maneira mais elegante, o mecanismo de copiar um molde usado na replicação, na transcrição e na tradução, nesse caso, é substituído pelo mecanismo da glicosilação, em que cada enzima só reconhece como substrato o produto da enzima anterior.

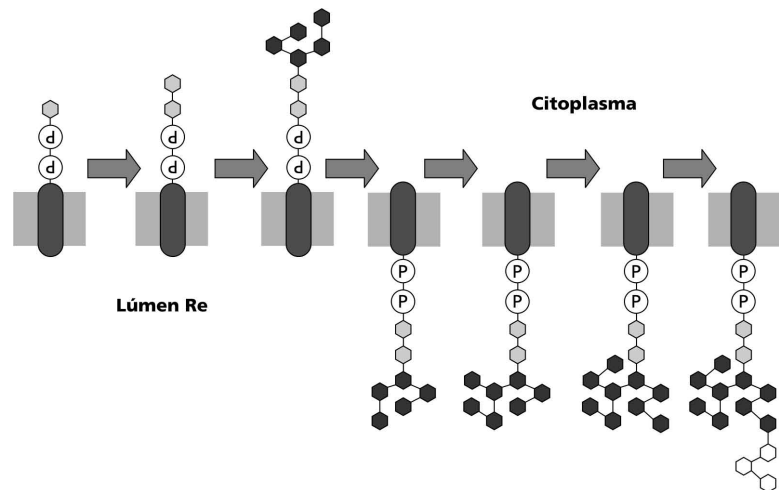


Figura 17.5: Pré-montagem da árvore de açúcares no retículo endoplasmático. Observe que os açúcares são adicionados, passo a passo, a um fosfolípido. Os dois primeiros são N-acetilglucosamina, depois são colocadas 5 manoses, uma de cada vez. Em seguida, já voltada para o lúmen do retículo (ninguém sabe como é que vira tudo isso, passando pela bicamada lipídica!), a árvore recebe mais 4 manoses e 3 glicoses, sempre uma por vez.

Quando aparece uma asparagina na cadeia protéica nascente, a árvore inteirinha é transferida para a proteína em apenas uma reação enzimática (**Figura 17.6**). Como você aprendeu em Bioquímica I, Asn é a sigla da asparagina.

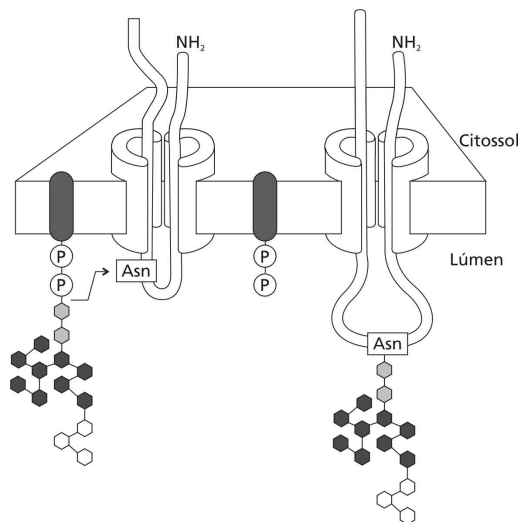


Figura 17.6: Transferência da árvore glicídica para a asparagina (Asn) numa cadeia protéica nascente. O ribossomo e o RNAm foram omitidos.

Atenção para um detalhe: nós ainda não saímos do retículo endoplasmático! Claro que para isso é preciso que a proteína seja terminada e corretamente enovelada. Nesta altura, ela talvez já tenha várias árvores glicídicas adicionadas a asparaginas expostas. Se estiver tudo correto com as cadeias protéica e glicídica, aí sim, a proteína poderá passar ao complexo de Golgi.

O processamento da glicoproteína continua no Golgi

Imediatamente antes de sair do retículo, a árvore de açúcares, que deu tanto trabalho para fazer, vai ser podada! Para que a proteína saia do complexo de Golgi, as três glicoses terminais serão sucessivamente cortadas por enzimas, e além delas uma das manoses também será retirada. Veja na **Figura 17.7** o que acontece com a árvore glicídica. Parece um absurdo? Durante anos muitos pesquisadores acharam que isso era mesmo um passo bioquímico inútil, mas outros pesquisadores (movidos pela idéia de que se a seleção natural manteve esse mecanismo por milhões de anos, em todos os eucariotos, desde fungos até mamíferos, é porque deve haver uma vantagem importante) resolveram procurar essa razão. E não é que acharam há pouco tempo? Tem a ver com o controle de qualidade da síntese da proteína e da própria montagem da árvore de açúcares.

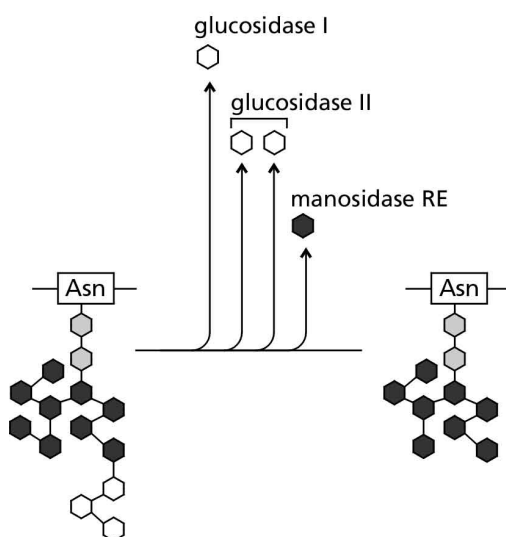


Figura 17.7: Depois que a árvore de açúcares previamente montada já foi transferida para a proteína, mas antes de sair do retículo endoplasmático, a glicose da ponta é cortada por uma enzima, as duas glicoses restantes são retiradas por outra enzima e ainda uma manose é cortada por uma terceira enzima independente, mas que só age depois das outras duas. Nesse processo de "poda" da árvore também vale o mecanismo de cada enzima reconhecer como substrato o produto da enzima anterior. Repare ainda que a cadeia protéica não foi desenhada, sendo visível apenas o aminoácido asparagina ao qual o açúcar está ligado.

Para passar ao complexo de Golgi, as glicoproteínas (e todas as moléculas que sejam transportadas entre retículo e Golgi) são colocadas em vesículas que brotam da região dos elementos de transição do retículo e seguirão em direção à rede cis do Golgi.

A quem pertencem as vesículas?

As vesículas que brotam do retículo em direção ao Golgi ficam muito próximas, entremeadas mesmo, das vesículas e túbulos que compõem a própria rede cis. É difícil, portanto, apenas pelo aspecto e localização na célula, dizer se cada uma delas pertence ao retículo endoplasmático ou ao Golgi. Para definir isso, é preciso buscar marcadores moleculares, isto é, a presença de moléculas típicas de cada organela. No atual estágio do conhecimento de Biologia Celular, em que tantas moléculas de cada compartimento são conhecidas, até isso ficou difícil. Assim, a maioria dos pesquisadores aceita que as vesículas e túbulos entre retículo endoplasmático e Golgi formam um compartimento especial de direcionamento de moléculas recém-sintetizadas ou recicladas que merece o nome de *Endoplasmic Reticulum Golgi Intermediate Compartment*, resumido na sigla ERGIC. Outra denominação cada vez mais usada é *Vesicular Tubular Cluster* ou VTC, já que essas vesículas e túbulos ficam muito próximos uns dos outros, lembrando um grande agregado vesicular. O importante é saber que esse compartimento está direcionando ao Golgi material que vem do retículo. Seja qual for o nome que vai "pegar", você já ouviu falar nele um dia.

Açúcares: uns são cortados, outros adicionados

Chegando à rede cis do Golgi, a glicoproteína já tem pronta a cadeia protéica, claro, mas a porção glicídica ainda está em construção. Essa construção ocorre em várias etapas e é, como você poderá notar, bastante complexa. Não esperamos que você decore a seqüência de eventos de glicosilação, mas que tenha aqui uma fonte de consulta para aprofundar seus conhecimentos. Nessa altura, o açúcar final da árvore glicídica do tipo N é manose, como está na **Figura 17.7**. Antes de continuar acrescentando açúcares, as enzimas da rede cis e da lamela cis ainda retirarão mais manoses (**Figura 17.8**).

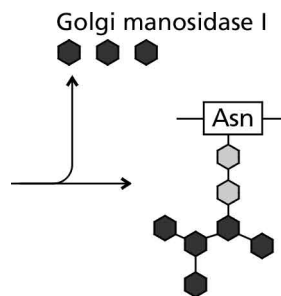


Figura 17.8: Na região cis do Golgi, manoses são retiradas, deixando a árvore glicídica com apenas 7 açúcares.

A glicoproteína sairá, assim, da lamela cis e, contida numa vesícula, será levada à lamela medial. Lá, vai encontrar enzimas que farão um balanço entre colocar e retirar açúcares, de modo que a cadeia ainda não vai crescer, mas vai ficar diferente (**Figura 17.9**). Isso feito, a glicoproteína sairá da lamela medial, mais uma vez a bordo de uma vesícula, e chegará à lamela trans.

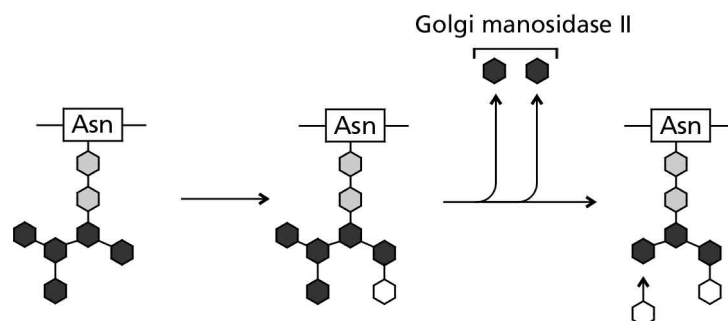


Figura 17.9: Retirada de manoses e adição de novas N-actilglucosaminas que ocorrem nas glicoproteínas ao passarem pela lamela medial do complexo de Golgi.

Na lamela trans, mais açúcares serão acrescentados, e aí a árvore glicídica vai finalmente crescer de novo. Além de outra N-acetilglucosamina, serão adicionadas galactoses. A glicoproteína continuará percorrendo a lamela trans e atingirá a rede trans, onde o último açúcar da árvore será adicionado: o ácido siálico (ou ácido N-acetil-neuramínico, conhecido pela sigla do inglês NANA). O ácido siálico tem enorme importância porque, além de ser um monômero polar, como os outros açúcares, ele tem carga negativa. Assim, ao terminar em ácido siálico, uma glicoproteína passa a ser uma molécula negativa em pH fisiológico, independente da sua porção protéica. Na **Figura 17.10**, temos um panorama passo a passo da glicosilação do tipo N.

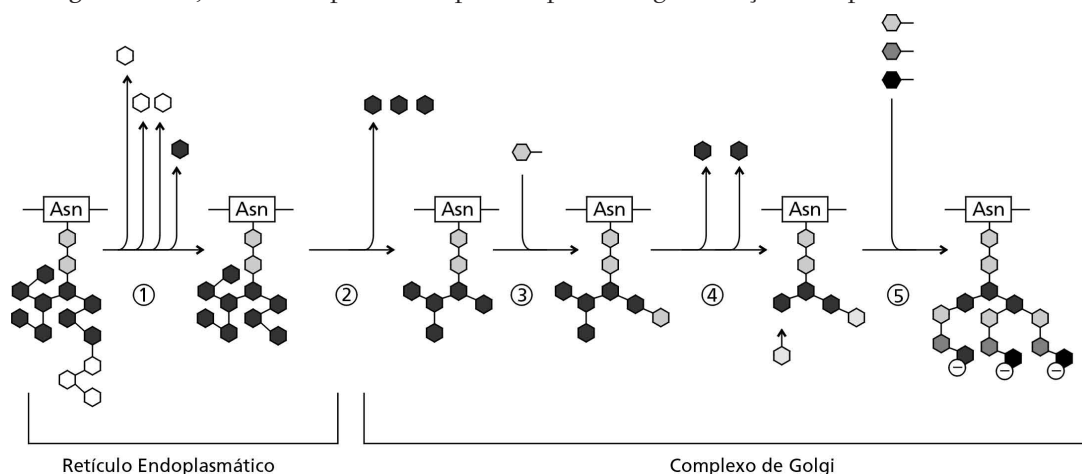


Figura 17.10: Funcionamento geral da glicosilação do tipo de N. Depois de a árvore pré-montada ser transferida para o aminoácido asparagina, ainda no retículo, três açúcares são cortados (passo 1). Já no complexo de Golgi, na rede cis e lamela cis, mais açúcares são retirados (passo 2). Na lamela medial, mais cortes e o primeiro acréscimo (passos 3 e 4). Pouco antes de sair do Golgi, são adicionados o penúltimo (lamela trans) e depois o último (na rede trans) açúcares (passo 5).

Ao chegar à membrana plasmática, os ácidos siálicos ligados a proteínas e também a lipídeos contribuirão muito para a carga negativa que uma célula apresenta ao ambiente.

Agora que você já sabe como é a porção glicídica de uma glicoproteína, é importante reforçar alguns pontos:

- A árvore glicídica que acabamos de ver não mostra todos os açúcares de uma glicoproteína. Até porque, se fosse assim, você chegaria à conclusão (incorreta) de que todas as glicoproteínas têm a porção glicídica igual. Ainda comparando com uma árvore, a cadeia de açúcares cuja montagem acompanhamos, você conheceu a formação do ramo principal, ou tronco. Cada glicoproteína do tipo N tem esse ramo principal e muitos ramos laterais, em que outros açúcares são adicionados ao ramo principal. Nesses “galhos”, os açúcares podem ser iguais aos do ramo principal ou não, havendo glicoproteínas com monômeros como fucose, rafinose ou outros nos ramos laterais. Assim resulta numa grande diversidade de árvores.

- Apesar das variações nos ramos laterais, no ramo principal, os dois últimos açúcares são sempre os mesmos: galactose e ácido siálico. Isso é muito importante porque alguns mecanismos da fisiologia celular estão baseados nesse arranjo.

Exemplos da importância de os últimos açúcares serem sempre os mesmos

Exemplo 1

As hemácias, ou glóbulos vermelhos, circulam pelo sangue por cerca de 120 dias, sendo depois destruídas por macrófagos do baço. Como o organismo sabe a idade de uma hemácia? Quando uma hemácia fica velha, perde o açúcar terminal de suas glicoproteínas, o ácido siálico, passando a expor galactose. Ao passar pelo baço, será reconhecida pelos receptores de galactose dos macrófagos que lá residem. Assim, ela será fagocitada e destruída.

Exemplo 2

Alguns parasitos como, por exemplo, o *Plasmodium falciparum*, causador da malária, podem controlar a expressão da enzima que corta o ácido siálico, a sialidase. Quando o sistema imune reconhece o *Plasmodium*, uma das primeiras coisas que ele faz é secretar sialidase, que corta seus próprios ácidos siálicos, expondo galactose, modificando, assim, a topologia das glicoproteínas de superfície e confundindo o sistema imune do hospedeiro. Essa estratégia é eficiente por um tempo limitado, mas dá tempo para que esse bandido unicelular ative outros recursos de evasão.

Exemplo 3

O *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, não tem no Golgi a enzima que adiciona ácido siálico. Em compensação, o parasito expõe na sua superfície uma outra enzima capaz de reconhecer os açúcares terminais galactose e ácido siálico das glicoproteínas do hospedeiro. Essa enzima, então, retira o ácido siálico das moléculas do hospedeiro e o coloca nas próprias glicoproteínas de superfície, que terminam em galactose. Por isso, ela recebe o nome de transialidase, já que retira e transfere o ácido siálico. O parasito, assim, fica todo “disfarçado” com os ácidos siálicos do hospedeiro. Não é esperto?

Conclusão: nos três exemplos fica evidente que uma célula é vista por outra, principalmente pelos açúcares que expõe na superfície.

- Nem todas as glicoproteínas do tipo N têm a árvore glicídica completa. Por razões inerentes à própria proteína, algumas delas terminam em manose, tendo para sempre a configuração de entrada no complexo de Golgi chamada *high manose*. Para diferenciar, as glicoproteínas que têm a árvore toda são chamadas “complexas” (muito adequadamente, você não acha?).

- A estrutura básica da árvore glicídica de glicoproteínas formadas pelo outro tipo de glicosilação (o tipo O, em que os açúcares começam a ser adicionados quando a proteína já está no Golgi) é um pouco diferente, mas os açúcares terminais, galactose e ácido siálico, são os mesmos.

As proteoglicanas

Além de sintetizar glicoproteínas, o complexo de Golgi também é o local de formação das proteoglicanas. Essas moléculas também têm uma porção protéica e uma porção glicídica, mas a proporção entre as duas é diferente: elas têm muito mais açúcar do que proteína (veja Aula 7). Uma de suas características marcantes é que, diferente das glicoproteínas, a porção glicídica das proteoglicanas não lembra uma árvore ramificada. Dímeros de açúcar se repetem, formando moléculas muito longas. Muitas proteoglicanas são sulfatadas, e a adição dos grupamentos sulfato também é feita por enzimas do complexo de Golgi. As proteoglicanas são encontradas na superfície das células, onde protegem bastante a membrana plasmática e a matriz extracelular, onde formam grandes polímeros que sustentam e conectam as células, como você vai ver em Biologia Celular II.

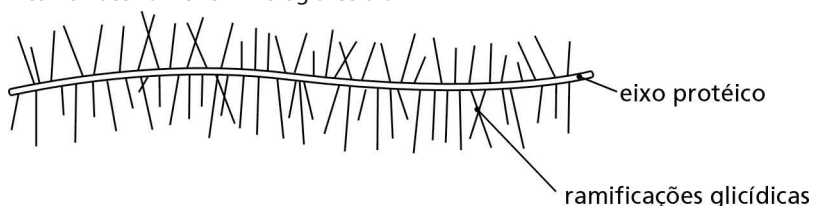


Figura 17.11:
Conformação básica de uma proteoglicana.

Como se descobriu que a glicosilação funciona assim?

Não foi nada fácil! Depois de saber quais enzimas eram responsáveis por cada etapa em experimentos de Bioquímica, experimentos de fracionamento celular mostraram que tais enzimas não eram citossólicas, estando confinadas em algum compartimento. O refinamento desses experimentos mostrou que as primeiras enzimas estavam no retículo e as últimas no complexo de Golgi, porque iam parar nas mesmas frações que enzimas marcadoras dessas organelas já conhecidas. Depois, adaptando os ensaios bioquímicos de cada uma destas enzimas para microscopia eletrônica (formando um produto eletrodenso e não colorido, como no espectrofotômetro usado em Bioquímica), foi possível demonstrar que as enzimas estavam dentro de diferentes lamelas do complexo de Golgi (**Figura 17.12**).

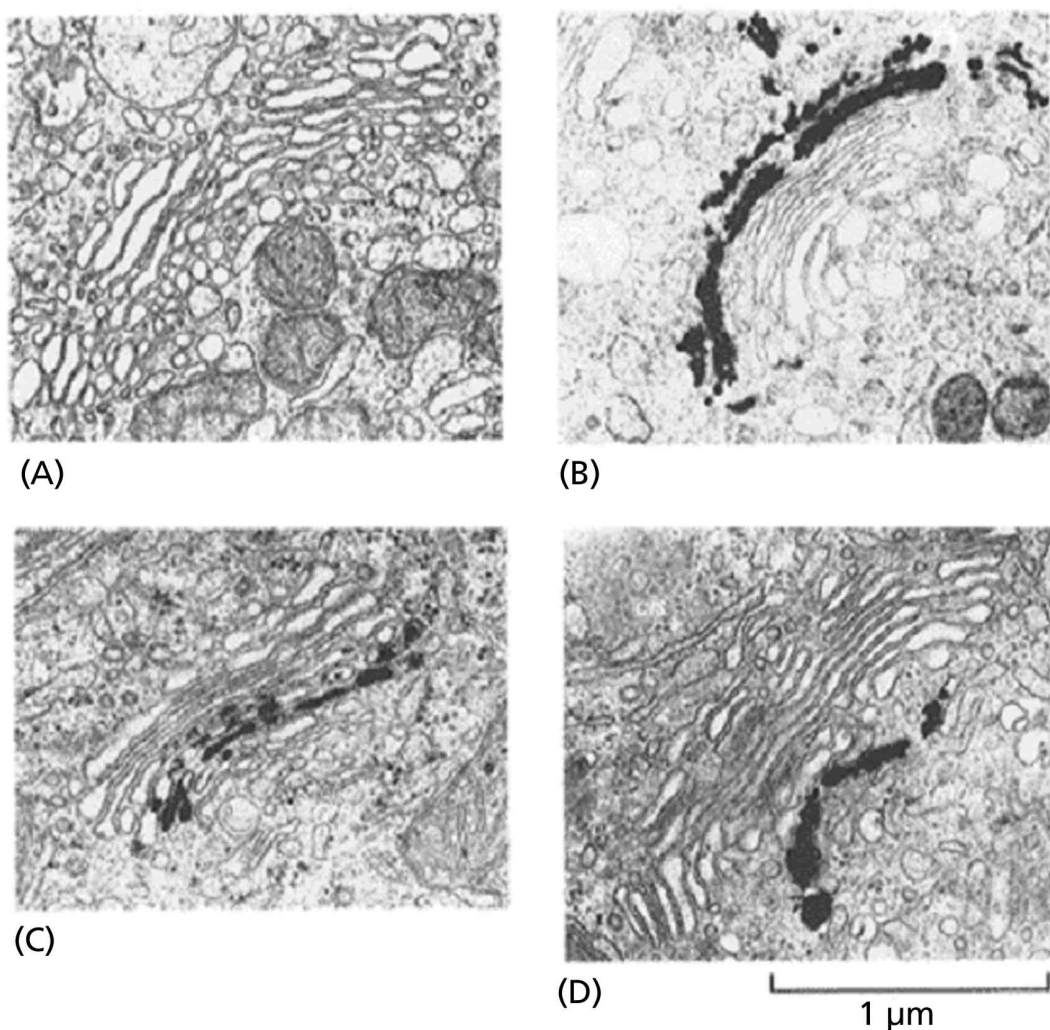


Figura 17.12: Na micrografia A, o complexo de Golgi não está submetido a nenhum tratamento especial. Na micrografia B, foi feita impregnação com metal pesado (a coloração de Golgi e Cajal), no caso, o ósmio, que se acumula preferencialmente na rede e lamela cis. Nas micrografias C e D, ensaios de citoquímica mostraram o produto final de enzimas de glicosilação na lamela trans (C) e na rede trans (D). Fotos de Daniel Friend.

CONCLUSÃO

Como chamamos a atenção no começo desta aula, o mecanismo de síntese de polímeros de açúcar difere do mecanismo de montagem de outros polímeros porque não usa o sistema de cópia. No entanto, a chance de haver erro na montagem é minimizada por outro mecanismo, o da linha de montagem, em que cada enzima usa como substrato o produto da enzima anterior. Ao deixar o retículo endoplasmático e chegar ao complexo de Golgi, além da linha de montagem, a chance de haver erro é ainda mais diminuída pelo fato de as diferentes enzimas que montam a árvore glicídica estarem em diferentes lamelas do Golgi, que não se comunicam entre si. Assim, ao final de cada etapa, a glicoproteína em construção muda de compartimento. É fácil perceber que se as lamelas do Golgi fossem embaralhadas, ou se as vesículas que transportam o material de lamela em lamela se perdessem e fundissem com a lamela errada, a glicoproteína simplesmente não ficaria pronta. É muito importante, portanto, que a organização do complexo de Golgi seja mantida. O único período em que o complexo de Golgi não está organizado como lamelas empilhadas é o da divisão celular. Mas, logo após a citocinese, a organela se reorganiza e volta a funcionar perfeitamente, produzindo glicoproteínas em perfeito estado.

Explicar por que as vesículas transportadoras não se fundem com o compartimento errado é um pouco mais difícil, mas na Aula 21 vamos examinar essa questão com cuidado.

Depois de prontas, as moléculas que percorrem o complexo de Golgi serão distribuídas para seu destino final. Essa distribuição ocorre na rede trans e pode ter a ajuda de receptores ou de outros recursos que também serão vistos na Aula 21. As funções do complexo de Golgi estão resumidas na **Figura 17.13**.

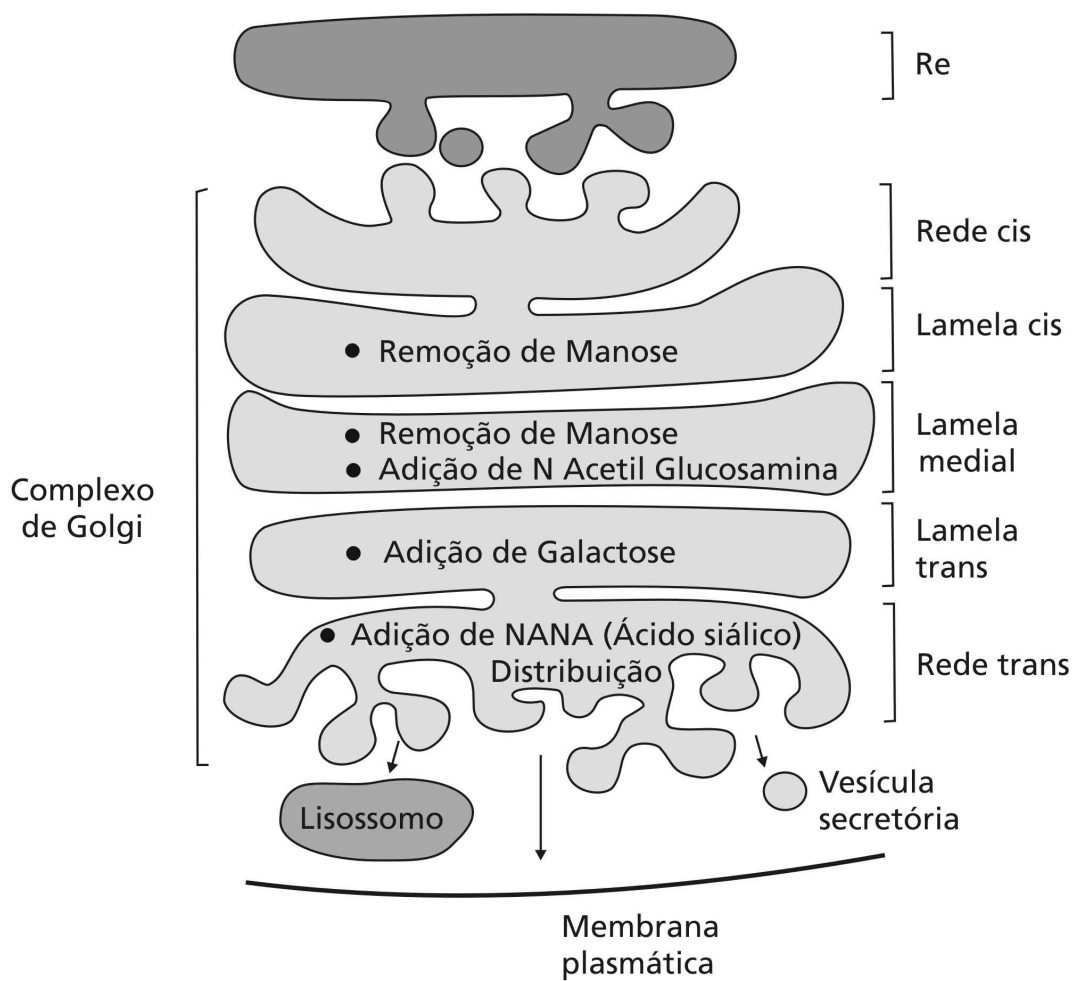


Figura 17.13: Esquema geral do funcionamento do complexo de Golgi.

RESUMO

- O complexo de Golgi é uma organela localizada nas proximidades do envoltório nuclear e formada por um sistema de cisternas ordenadas em pilha.
- Proteínas sintetizadas no retículo endoplasmático são transportadas em vesículas para o complexo de Golgi. Essas vesículas se fundem às cisternas da face cis do Golgi.
- No complexo de Golgi, as proteínas vindas do retículo são modificadas (glicosiladas ou sulfatadas) e despachadas para a membrana plasmática, lisossomas ou vesículas de secreção.
- As proteínas são transportadas de uma cisterna do Golgi para outra cisterna adjacente sempre através de vesículas que brotam em uma cisterna e se fundem à seguinte.
- Em cada cisterna do complexo de Golgi, as proteínas são modificadas pela adição ou supressão de moléculas de açúcar da sua cadeia primária de aminoácidos. Esse processo se chama glicosilação.
- A glicosilação pode ser de dois tipos: N e O.
- A glicosilação do tipo N tem início ainda no retículo endoplasmático e os açúcares se ligam ao aminoácido asparagina na cadeia polipeptídica.
- A glicosilação do tipo O tem início no Golgi e os açúcares se ligam a um aminoácido serina ou treonina.
- Cada cisterna do Golgi tem um conjunto diferente de enzimas que participam da glicosilação.

As cadeias de açúcar das glicoproteínas ficam sempre expostas para o meio extracelular e são as principais moléculas no reconhecimento entre células.

EXERCÍCIOS

1. Como o complexo de Golgi pode ser localizado em microscopia óptica? E em microscopia eletrônica?
2. O que se entende por face cis e trans do complexo de Golgi?
3. Por que as lamelas do complexo de Golgi precisam ser “arrumadinhas”?
4. Liste as principais funções do complexo de Golgi, explicando sucintamente o que são.
5. Diferencie a glicosilação do tipo N da do tipo O.

Controle de qualidade da síntese protéica

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer os mecanismos pós-traducionais de controle de qualidade da síntese de proteínas.
- Entender o funcionamento das chaperonas.
- Conhecer o sistema citoplasmático de degradação de proteínas: proteassomas.

INTRODUÇÃO

Ao longo da evolução, as células incorporaram mecanismos bastante eficientes para evitar que erros na transmissão da informação genética se propaguem na replicação, na transcrição e na tradução. Ainda assim, com todo esse cuidado de assegurar que a sequência de aminoácidos esteja correta, ainda é possível que uma proteína não consiga desempenhar suas funções por erro no enovelamento. Na verdade, uma quantidade significativa de proteínas precisa de ajuda para atingir a configuração terciária correta. Essa ajuda é fornecida por uma família de proteínas que, além de auxiliar o enovelamento protéico, encaminha a proteína à destruição, caso não seja possível atingir a configuração correta.

Essas proteínas são chamadas de chaperonas (*chaperons* são aqueles meninos que ajudavam os nobres renascentistas a vestir as roupas complicadíssimas e colocar as perucas enormes) e constituem uma família de muitas proteínas diferentes com função semelhante: elas usam energia da hidrólise de ATP para desenovelar proteínas, possibilitando novo enovelamento, dessa vez na *forma* correta ou no *lugar* correto. Vamos ver a seguir alguns exemplos desse mecanismo.

Proteínas auxiliares: as chaperonas

As proteínas auxiliares foram descobertas em experimentos em que células eram submetidas a altas temperaturas, cerca de 42°C para células que vivem a 37°C, na presença de um aminoácido marcado radioativamente (metionina-³⁵S) e depois tinham o perfil de proteínas analisado por eletroforese e auto-radiografia (veja box). Em temperaturas mais altas, a quantidade total de proteínas sintetizada era maior do que na temperatura normal, no mesmo período, o que já era esperado. Mas a surpresa é que havia um grupo de proteínas que antes nem era perceptível, mas depois do choque térmico aparecia em quantidade maior. Essas proteínas foram identificadas, analisadas e tiveram sua função determinada. Eram proteínas que hidrolisavam ATP e estavam sempre associadas a outras proteínas, algumas também recém-sintetizadas, ajudando no enovelamento delas. Elas ficaram conhecidas como proteínas de choque térmico ou *hsp* (do inglês *heat shock proteins*). Depois de conhecer sua função, ficou fácil compreender porque aumentavam tanto de quantidade no choque térmico: se mais proteínas estavam sendo sintetizadas e mais depressa, é provável que precisassem de mais ajuda.

Auto-radiografia é uma técnica em que se separam proteínas por eletroforese e depois, para distinguir quais das proteínas estão marcadas radioativamente, coloca-se o gel em contato com um filme de raios X. Só as proteínas marcadas impressionam o filme. O caso citado no texto é chamado incorporação metabólica: fornecemos para a célula um precursor radioativo da molécula que queremos detectar. Se queremos detectar proteínas sintetizadas num dado período, fornecemos um aminoácido marcado, como a metionina, que tem o átomo de enxofre radioativo (^{35}S).

Depois que a família de proteínas hsp foi caracterizada, muitos de seus componentes foram identificados com base na presença de seqüências peptídicas conservadas. Assim, foram encontradas proteínas de choque térmico no citossol, nas mitocôndrias, no retículo endoplasmático. Comparando as diferentes proteínas de choque térmico, ou chaperonas, elas puderam ser classificadas em dois grupos: o das hsp60 e o das hsp70, com modos de ação ligeiramente diferentes.

hsp70 ajuda no enovelamento das proteínas

As hsp70 (Figura 18.1) são proteínas menores, que se ligam em seqüências hidrofóbicas expostas e mantêm a cadeia peptídica desenovelada até que ela possa assumir a conformação tridimensional correta.

Essa chaperona tem duas tarefas importantes: ajudar o enovelamento e impedir que várias proteínas malformadas, com seqüências hidrofóbicas expostas, formem agregados, que além de inúteis podem ser muito nocivos (veja box no final da aula). Ela ajuda proteínas que estejam sendo sintetizadas em ribossomos livres no citoplasma ou proteínas que foram transferidas através do translocon (mencionado na Aula 16) para o retículo endoplasmático. Nesse caso, entra em ação outro conjunto de chaperonas do grupo hsp70, que mora dentro do retículo; a mais conhecida delas é a BIP, que é considerada marcadora do retículo endoplasmático.

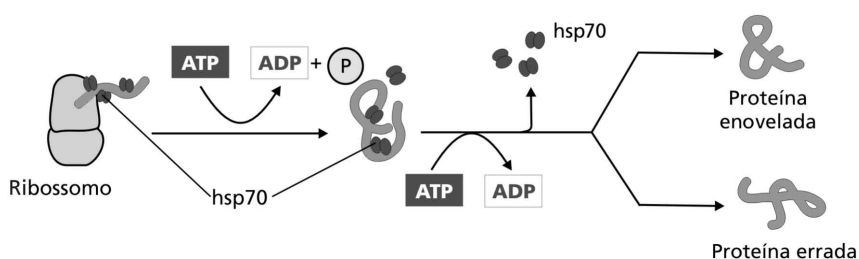


Figura 18.1: O modo de ação da chaperona hsp70: ela impede que a cadeia protéica enovele erradamente.

Nem sempre esse tipo de chaperona age em cadeias protéicas que estão sendo sintetizadas. Um bom exemplo é a transferência de proteínas que são feitas no citossol, lá ficam prontas, mas devem funcionar na mitocôndria. Para entrar na mitocôndria, ela precisa ser desenovelada, transportada e depois reenovelada dentro da mitocôndria. Certamente, as chaperonas ajudam a direcionar a cadeia para dentro da mitocôndria, o que equivale a tentar guardar um novelo de lã dentro de um armário fechado, passando-o pelo buraco da fechadura: quanto mais longa a proteína, mais complicado fica passar toda a sua extensão para dentro. O que poderia facilitar esta tarefa seria se *anõezinhos* puxassem o fio pelo lado de dentro (Figura 18.2). Quem executa a tarefa de tais *anõezinhos* são chaperonas que residem na mitocôndria. Você vai saber mais sobre esse transporte na aula de mitocôndria.



Figura 18.2: Como passar um novelo pelo buraco da fechadura?

As hsp60 e o controle de qualidade

As chaperonas do grupo hsp60 agem sempre sobre uma proteína já pronta que tenha um erro na configuração terciária. O erro aparece sempre como uma sequência de aminoácidos hidrofóbicos que ficam expostos e são reconhecidos pelas chaperonas (aliás, todas as chaperonas reconhecem e se ligam a seqüências hidrofóbicas de aminoácidos). Uma vez detectado o erro, as hsp60 se ligam à proteína, aprisionando-a dentro de uma reentrância da própria chaperona, formando um ambiente separado do citossol, propício para que a energia do ATP, que a chaperona hidrolisou, consiga modificar o enovelamento da proteína. As chaperonas do grupo das hsp60 parecem um barrilzinho (Figura 18.3).

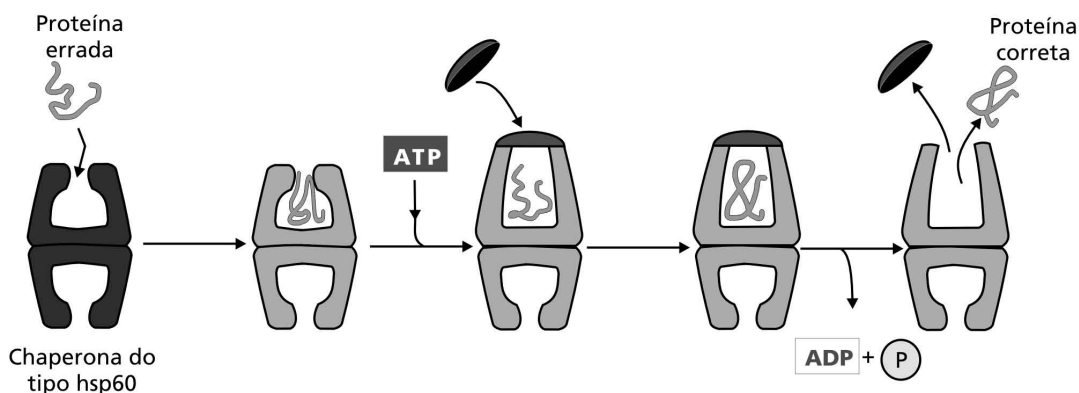


Figura 18.3: Modo de ação das chaperonas do grupo das hsp60.

Proteassomas: trituradores de proteínas

E se as chaperonas não conseguirem consertar as proteínas mal enoveladas? Na verdade, elas tentam várias vezes, mas, ainda assim, nem sempre conseguem. Se não for possível consertar a proteína, as chaperonas encaminham essa proteína para degradação. Se você acha que a degradação de proteínas dentro de uma célula só pode ocorrer dentro dos lisossomos, saiba que durante muitos anos essa era a idéia em vigor. Depois, através de experimentos de fracionamento celular e, mais tarde, de Biologia Molecular, descobriu-se que existem enzimas que degradam proteínas (enzimas proteolíticas) no citossol também. Eram enzimas que funcionavam muito bem em pH 7,0. A descoberta surpreendeu muito, já que se achava que as enzimas proteolíticas não saíam degradando tudo porque estavam presas aos lisossomos. Mas o fato é que elas não saem degradando tudo! Como explicar? A resposta veio do fato de as enzimas proteolíticas citossólicas não estarem dispersas, e sim arranjadas em conjuntos enzimáticos chamados **proteassomas**. Esse arranjo de enzimas parece um pequeno triturador de papel, ou um apontador de lápis automático, que tem as lâminas voltadas para dentro (Figura 18.4).

Para você ter uma idéia do tamanho, um proteassoma é pouco menor que um ribossomo; seu tamanho também é medido em "s" (svedbergs, unidade de sedimentação: expressa a velocidade com que uma macromolécula vai para o *pellet* em uma ultracentrifugação em condições padronizadas). As subunidades do ribossomo têm 40s a menor e 60s a maior, enquanto a porção mediana do proteassoma, que contém as enzimas, mede 26s, e as porções de reconhecimento, 19s cada uma.

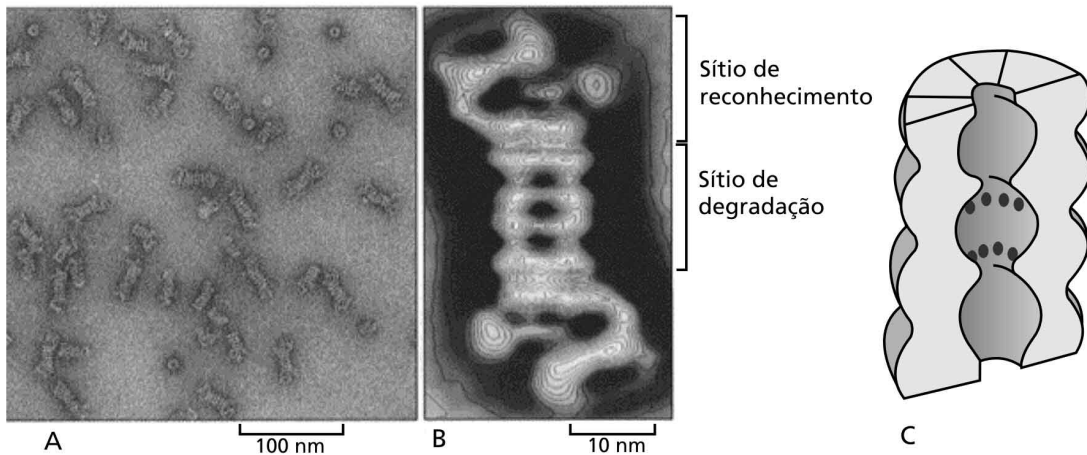


Figura 18.4: Proteassomas vistos por contração negativa no microscópio eletrônico (A). Em B, a imagem de um proteassoma trabalhada em computador, mostrando que cada proteassoma possui uma região mediana, que é o sítio de degradação onde estão as proteases com o sítio ativo voltado para dentro e, em cada extremidade, um sítio de reconhecimento. Em C, um desenho esquemático de um proteassoma onde se vê o seu interior.

Fonte: *Molecular Biology of the Cell*, 3ª ed.

Assim, o proteassoma só vai digerir as proteínas que entrarem nele, chegando ao alcance do sítio ativo das enzimas. E uma proteína não entra no proteassoma por acaso. Ela precisa ser reconhecida nas bordas do proteassoma. O que será que o proteassoma reconhece? Talvez, de novo, as seqüências hidrofóbicas expostas em proteínas mal enoveladas. No entanto, descobriu-se que os proteassomas também degradam proteínas em perfeito estado, se elas estiverem sobrando na célula. Proteínas em excesso devem mesmo ser degradadas, para que seu armazenamento não “ocupe espaço” e os aminoácidos resultantes da degradação sejam reaproveitados. O sistema de degradação citossólica em proteassomas está acoplado a um sistema de marcação de quem deve ser degradado. É como se a proteína que vai ser destruída recebesse uma etiqueta que pudesse ser lida pelo proteassoma, que, mediante a identificação, vai puxá-la para dentro. Essa “etiqueta” é uma pequena proteína que recebeu o nome de **ubiquitina** (veja o box). Proteínas destinadas à degradação recebem várias ubiquitinas. O sítio de reconhecimento do proteassoma tem receptores para ubiquitina.

Ubiquitina, a proteína que está em toda parte

Ao identificar uma nova proteína, os cientistas procuram batizá-la com um nome que evidencie uma característica marcante, facilitando o seu reconhecimento. Assim, a ubiquitina recebeu este nome por ser uma proteína ubíqua (onipresente), isto é, ser encontrada em todas as células; afinal, qual é a célula que não precisa estar constantemente controlando a qualidade das proteínas que produz?

Controle de qualidade no retículo endoplasmático

Agora você já conhece vários novos personagens celulares e, assim, podemos responder a uma pergunta que ficou em suspenso na Aula 17: por que as glicoproteínas do tipo N têm as glicoses da ponta da árvore de açúcares cortadas antes de sair do retículo endoplasmático? Como já adiantamos na aula passada, esse corte funciona como um sinal de que a glicoproteína está corretamente sintetizada e enovelada, podendo prosseguir para o complexo de Golgi. Mas e se ela não estiver perfeita? As glicoses não são cortadas e ela não sai. O que acontece com ela? Essa glicoproteína vai ser reconhecida por chaperonas do retículo que vão hidrolisar ATP para conseguir energia e tentar consertá-la. As chaperonas mais conhecidas que fazem esse trabalho são a **calnexina** e a **calreticulina**. Essas chaperonas são também lectinas, já que reconhecem um açúcar específico: uma glicose na ponta de uma árvore N-ligada (Figura 18.5).

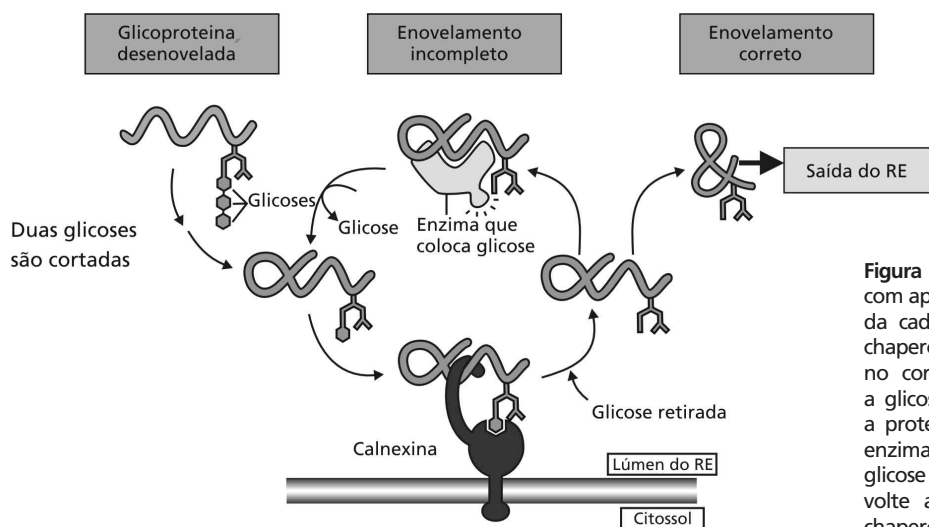


Figura 18.5: Uma glicoproteína com apenas uma glicose no fim da cadeia é reconhecida pela chaperona calnexina, que ajuda no correto enovelamento. Se a glicose for cortada antes de a proteína ficar correta, outra enzima recoloca apenas uma glicose para que a proteína volte a ser reconhecida pela chaperona, até consertar!

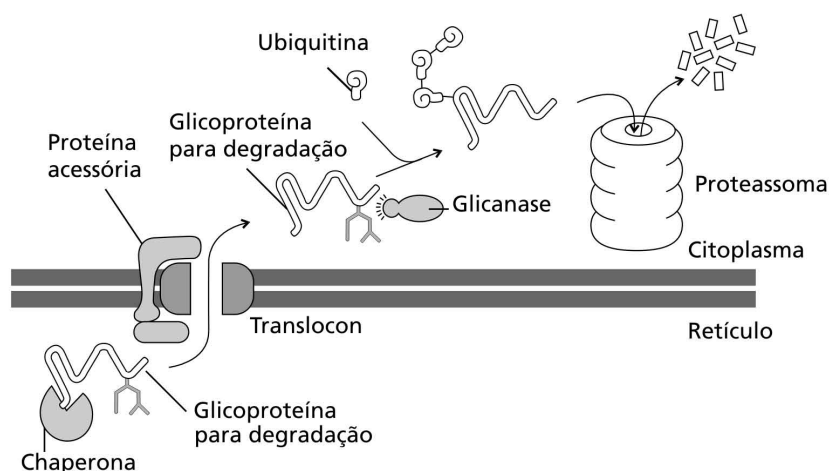
Quando a árvore de açúcares é transferida para a proteína, ela tem três glicoses terminais. Duas delas são retiradas e a terceira só será cortada se tanto a porção glicídica quanto a protéica estiverem perfeitas. Caso contrário, calnexina e/ou calreticulina se ligam à proteína e tentam consertá-la. Enquanto não conseguirem, não soltam. Se a última glicose for retirada e a proteína ainda não estiver enovelada corretamente, uma enzima recoloca apenas uma glicose, para que as chaperonas voltem a reconhecê-la e consertá-la (Figura 18.5).

Você deve ter percebido que as chaperonas são mesmo insistentes e tentam muito consertar uma glicoproteína antes de desistir.

Isso, às vezes, não é possível. Quando isso acontece, as próprias chaperonas se encarregam de encaminhar a proteína para degradação. Em primeiro lugar, essa proteína não vai para o Golgi, porque a chaperona não solta. A chaperona é uma proteína residente do retículo endoplasmático. Isso quer dizer que ela tem uma sequência de aminoácidos característica de retículo endoplasmático, como uma sequência de sinal que funciona para retenção no retículo. Se uma proteína residente do retículo escapar, por engano, para o complexo de Golgi, ao chegar lá na rede cis será reconhecida por um receptor para a sequência típica de retículo e colocada numa vesícula que retornará ao retículo endoplasmático. Quando isso acontece com uma chaperona que estava ligada numa proteína tentando consertá-la, a proteína voltará para o retículo junto com a chaperona, impedindo que ela atinja outras regiões da célula ou do meio extracelular, onde poderia causar grandes prejuízos.

No retículo endoplasmático, as proteínas que *não têm mais jeito* serão mandadas para a degradação no citoplasma e, para chegar lá, precisam atravessar a membrana do retículo! Essa proteína já fez isso antes, quando estava sendo sintetizada e saindo do ribossomo, ainda não enovelada. Agora, para passar de volta para o citoplasma, ela também precisa estar desenovelada, e providenciar o desenovelamento é função da chaperona. Para voltar para o citoplasma, a proteína será transportada através do translocon, só que agora na *contramão* (alguns pesquisadores chamam de retrotranslocon). Para abrir o translocon, e evitar que moléculas indevidas entrem ou saiam, existem proteínas auxiliares que ainda não foram identificadas. Uma vez no citoplasma, essas proteínas terão a porção glicídica cortada de uma só vez por uma enzima (glicanase), serão ubiquitinadas, reconhecidas e degradadas por um proteassoma (Figura 18.6).

Figura 18.6: Transporte de uma glicoproteína malformada no retículo para o citoplasma, onde será degradada em proteassomas.



Proteassomas e chaperonas mantêm a célula com todas as proteínas em ordem

Além da vantagem óbvia de evitar o acúmulo de proteínas malformadas e, portanto, inúteis, a importância do trabalho das chaperonas e dos proteassomas fica mais evidente quando examinamos as consequências do acúmulo de proteínas malformadas.

É comum que proteínas malformadas tenham seqüências hidrofóbicas indevidamente expostas. Esta exposição leva a uma tendência de agregação. Os agregados protéicos só se formam se o sistema de degradação não funcionar, mas, uma vez iniciada a agregação, a atividade das proteases fica difícil porque as proteases não têm acesso às proteínas e eles (os agregados) também não entram nos proteassomas. Um agregado protéico que cresça muito pode levar a célula à morte, ou, se a célula conseguir expeli-lo, causar enorme prejuízo ao tecido, acumulando-se no meio extracelular. Um tipo particular de agregado protéico é formado quando regiões β -pregueadas anormalmente expostas em várias proteínas provocam o empilhamento dessas proteínas, formando o que se chama **placa β -amilóide** (Figura 18.7). As placas β -amilóides são marcantes em algumas doenças neurodegenerativas, como o mal de Alzheimer e a doença de Huntington, embora não se possa atribuir a essas placas a causa das doenças.

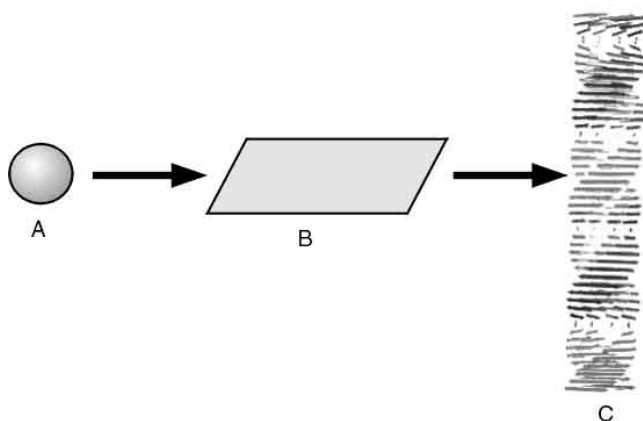


Figura 18.7: Uma proteína globular (A), quando mal enovelada, pode assumir uma conformação planar (B) que expõe folhas β -pregueadas. Muitas proteínas com essa configuração formam um agregado conhecido como β -amilóide (C), altamente resistente a proteases e muito prejudicial aos tecidos.

Agregados de proteínas mal enoveladas também estão presentes na doença humana de Creutzfeldt-Jacob e na encefalopatia espongiforme bovina, conhecidas como “mal da vaca louca”. Nesse caso, a presença da proteína mal enovelada pode induzir a modificação da proteína correta, que está presente na superfície de células nervosas de indivíduos normais, e cuja função ainda não é conhecida (**Figura 18.8**). A proteína defeituosa é resistente à degradação por proteases e pode ser adquirida quando um indivíduo ingere o tecido que contém a proteína defeituosa de outro indivíduo, mesmo de outra espécie. Assim, a proteína defeituosa foi considerada “infecciosa”, já que sozinha era capaz de transmitir uma doença, e ficou conhecida como prion (encurtamento de “protein only”).

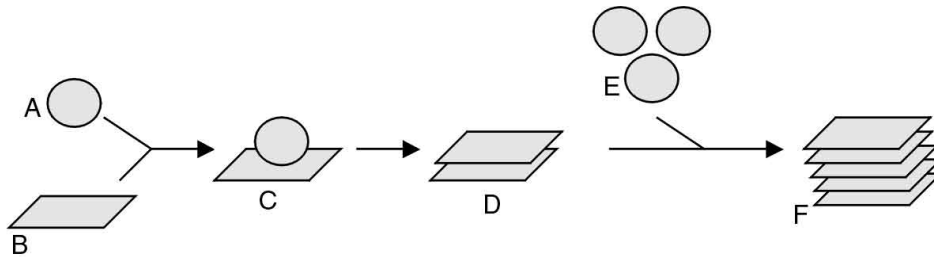
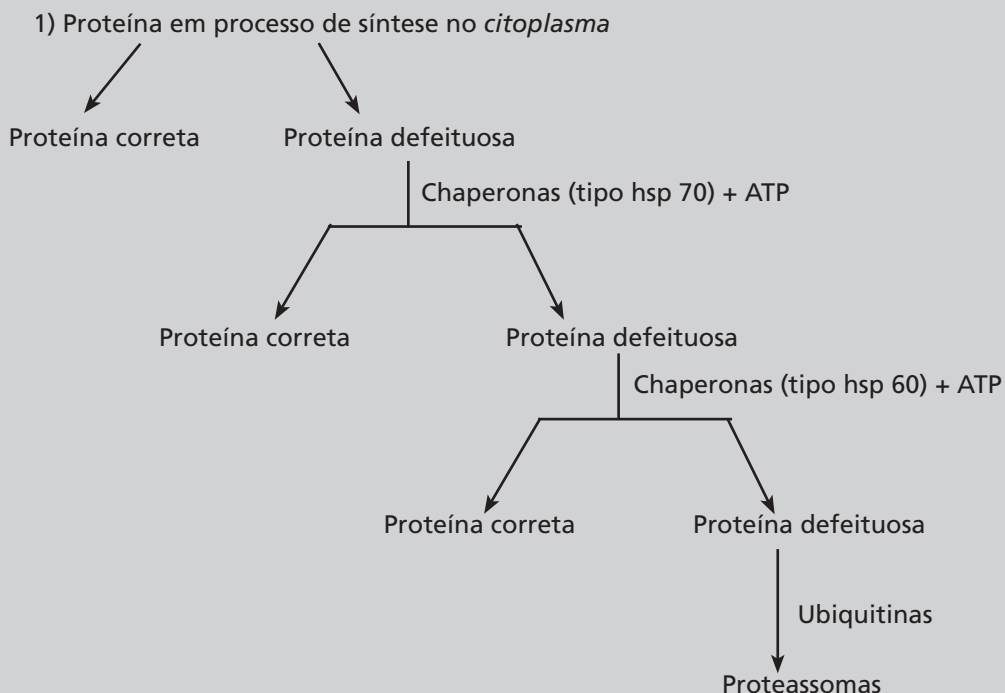
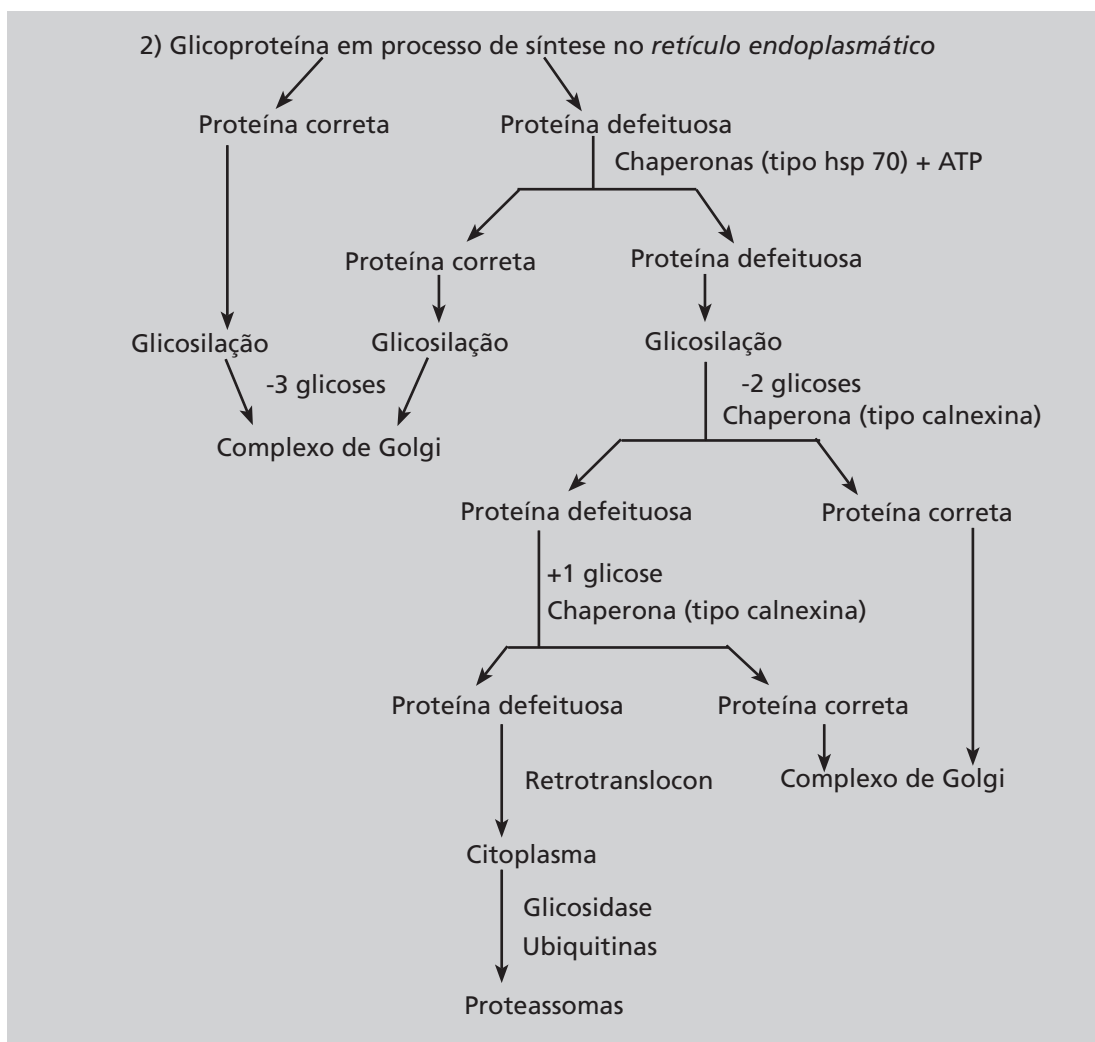


Figura 18.8: Se uma proteína normal (A) se associar a uma proteína igual a ela, mas mal enovelada (B), será formado um heterodímero (C). A proteína defeituosa vai induzir a modificação da proteína normal, formando um homodímero (D). Quando novas proteínas normais forem produzidas (E) elas se associarão às defeituosas, formando um agregado (F), que crescerá à medida que novas proteínas se associarem.

RESUMO

Tanto as proteínas sintetizadas no citoplasma quanto no retículo estão sujeitas a ter defeitos em sua conformação. Os mecanismos de detecção e reparo desses defeitos estão esquematizados a seguir. As proteínas cujos defeitos não podem ser reparados são marcadas e encaminhadas para destruição nos proteassomas.





EXERCÍCIOS

1. Que tipo de erro pode ocorrer durante a síntese de uma proteína?
2. O que são chaperonas? Por que também são chamadas proteínas de choque térmico?
3. Diferencie as chaperonas hsp70 das hsp60.
4. O que são proteassomas?
5. Como são encaminhadas para destruição nos proteassomas as proteínas malformadas?
6. O que são placas β -amilóides?

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Saber por que as células endocitam.
- Conceituar e diferenciar:
 - endocitose de fase fluida e endocitose mediada por receptor;
 - fagocitose imunológica e não-imunológica.

INTRODUÇÃO

Você sabe como as células se alimentam? Elas captam nutrientes no meio externo. Numa cultura de células (Aula 4), o meio é a fonte de nutrientes. *In vivo*, os nutrientes são obtidos do meio extracelular.

Como será que as células fazem isso?

Já vimos que moléculas pequenas e hidrofóbicas passam por difusão simples pela bicamada lipídica (**Figura 19.1.a**). Moléculas hidrofílicas relativamente pequenas e simples, como: íons e monossacarídeos, passam pela membrana através de proteínas transportadoras específicas como canais ou carreadores (**Figura 19.1.b**), chegando ao citoplasma (veja a aula de Transporte).

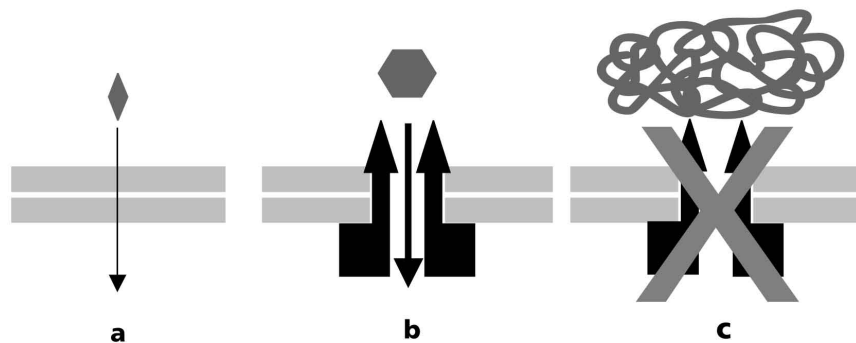


Figura 19.1: (a) Uma molécula pequena e hidrofóbica pode simplesmente atravessar a bicamada lipídica; (b) já moléculas hidrofílicas, mesmo pequenas, só atravessam através de proteínas transportadoras específicas; (c) moléculas maiores, como proteínas, são muito grandes para passar através de proteínas ou da bicamada lipídica.

E se o nutriente for uma partícula ou molécula grande, como uma proteína, por exemplo? As moléculas grandes não conseguem atravessar a bicamada lipídica da membrana plasmática (**Figura 19.1.c**). Também não existem transportadores para moléculas muito grandes ou bactérias. Para conseguir captá-las, a célula faz uma invaginação, ou fossa, na sua membrana, e termina por englobar a partícula numa vesícula (**Figura 19.2**).

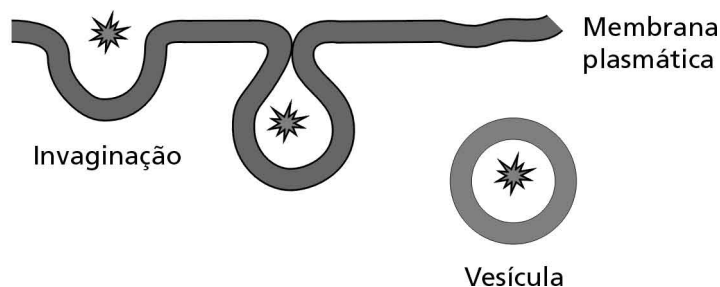


Figura 19.2: Para englobar uma partícula grande, como uma bactéria, a membrana se deforma, criando uma depressão que se aprofunda e se fecha, formando uma vesícula.

Essa invaginação vai se aprofundando até que sua abertura para o meio externo se fecha, formando o que chamamos vesícula; essa estrutura vai conter líquido extracelular e as moléculas dispersas nele (**Figura 19.2**). Captar meio extracelular e seus solutos é o princípio básico da endocitose (*endo* = dentro, *cytos* = célula), assunto desta aula.

Para onde vai a vesícula e seu conteúdo?

Da mesma forma que nosso alimento passa por um processo de digestão antes de ser absorvido pelo organismo, também os nutrientes que são internalizados nessa vesícula não vão diretamente para o citossol. A vesícula que o contém vai se encarregar de entregá-lo para outros **compartimentos intracelulares**. Na Aula 15, definimos o que são compartimentos intracelulares e você deve lembrar que, assim como a vesícula que se formou em torno da partícula, eles também são limitados por uma membrana que os separa do citoplasma. A transferência do material contido na vesícula para um compartimento intracelular depende da fusão entre as membranas desses dois compartimentos (**Figura 19.3**). Para que isso aconteça, é preciso que os compartimentos se aproximem muito, a ponto de toda a água ser excluída da região de contato entre suas membranas, permitindo que elas se fundam (lembre que as membranas são essencialmente bicamadas lipídicas).

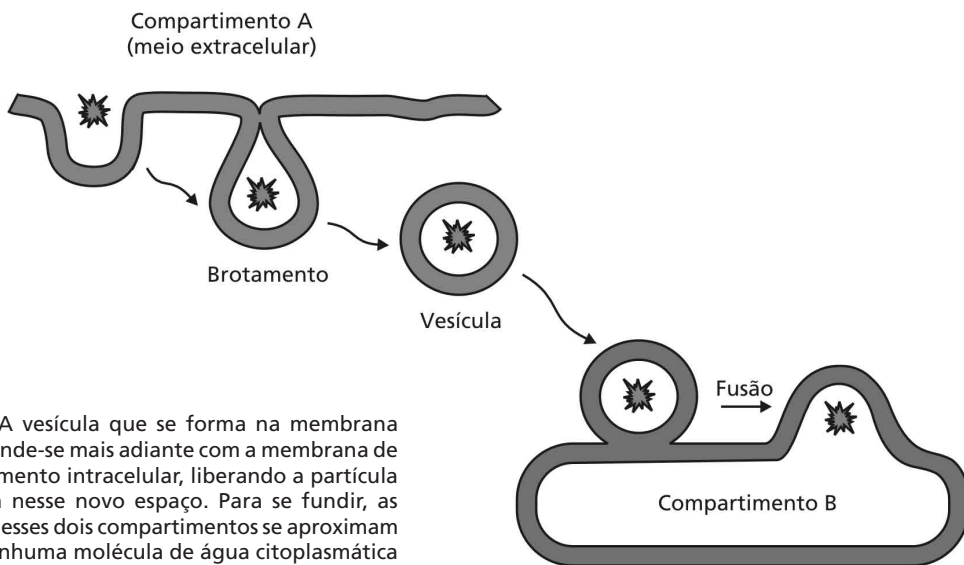


Figura 19.3: A vesícula que se forma na membrana plasmática funde-se mais adiante com a membrana de um compartimento intracelular, liberando a partícula internalizada nesse novo espaço. Para se fundir, as membranas desses dois compartimentos se aproximam tanto que nenhuma molécula de água citoplasmática fica entre elas.

Nesses compartimentos, os nutrientes serão **processados**. Esse processamento equivale à digestão, resultando em moléculas menores e mais simples, que serão transportadas para o citossol e até mesmo para outras organelas.

Por que endocitar?

As células endocitam principalmente para captar moléculas grandes, que não podem ser internalizadas por proteínas transportadoras. Algumas células são capazes de endocitar partículas bastante grandes, inclusive outras células, como uma bactéria, por exemplo (Figura 19.4).

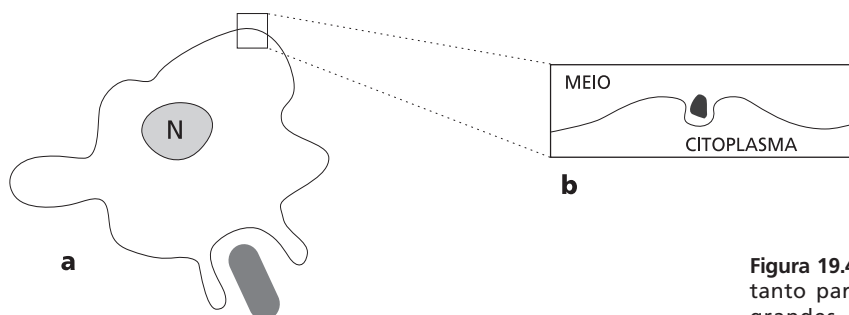


Figura 19.4: As células endocitam tanto partículas relativamente grandes, como bactérias (a), quanto macromoléculas, como uma proteína globular (b).

A endocitose pode ser visualizada?

A internalização de uma bactéria por um macrófago pode ser observada ao microscópio óptico (Figura 19.4.a). Já a endocitose de macromoléculas só é observável ao microscópio eletrônico (Figura 19.4.b). A entrada de moléculas muito pequenas (Figura 19.1), como um íon, não pode ser observada por microscopia, só por métodos indiretos.

Quando uma célula endocita algo grande, como uma bactéria, ao invés de invaginar sua membrana plasmática, ela emite projeções em direção à bactéria que acabarão por englobá-la (Figura 19.5).

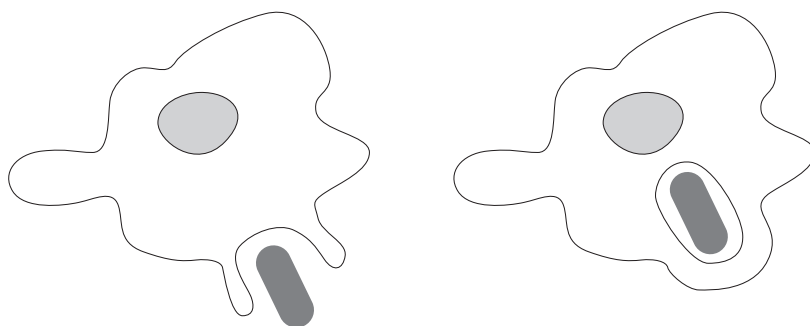


Figura 19.5: A endocitose de uma bactéria resulta da emissão de prolongamentos da membrana plasmática que a “abraçam” e terminam por se fechar em torno dela, englobando-a.

Essas projeções são chamadas pseudópodos, e voltaremos a falar delas nas aulas sobre citoesqueleto (22 a 25). Quando os pseudópodos já envolveram a bactéria, formam um compartimento fechado contendo, além dela, um pouco do líquido extracelular. Por ser maior do que uma vesícula endocítica, chamamos esse compartimento de **vacúolo** (Figura 19.5).

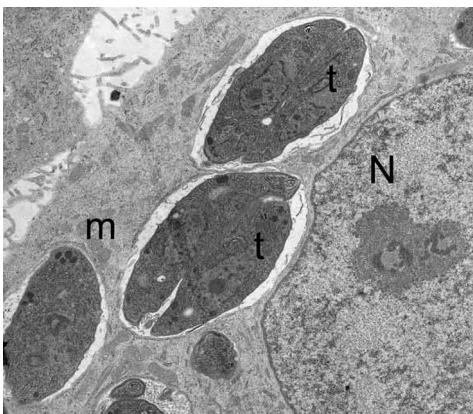
Tamanho é documento (pelo menos para endocitose!)

Podemos classificar os mecanismos de endocitose em função do **tamanho** do material endocitado. A endocitose de líquido extracelular e seus solutos é chamada de **pinocitose** (o radical *pinos* significa beber), ou de **endocitose de fase fluida**. A vesícula formada geralmente é menor que 150 nm e é chamada **vesícula endocítica**.

Quando a célula endocita materiais maiores, ao invés de invaginar, a membrana emite pseudópodos; ela está fazendo **fagocitose** (o radical *fagos* significa comer). O vacúolo formado tem tamanho maior e é chamado **vacúolo fagocítico** ou **fagossomo**.

Endocitar nem sempre é comer

Muitas vezes, uma célula fagocita outra com objetivo de defesa, e não de nutrição. É o que acontece com as células de defesa do sistema imune, principalmente macrófagos e neutrófilos (são tipos de leucócitos ou glóbulos brancos). São células que têm a função de fagocitar agentes invasores do organismo, identificar suas particularidades e repassar essas informações às outras células do sistema imune (você vai saber como elas fazem isso em Biologia Celular II). Como macrófagos e neutrófilos fazem isso com muita frequência e eficiência, são chamados fagócitos profissionais. Alguns protozoários, como as amebas, também fagocitam com muita eficiência e são consideradas fagócitos profissionais. Exercendo essa atividade de defender o organismo, macrófagos e neutrófilos fagocitam parasitos (bactérias, protozoários etc.). Nesse caso, o vacúolo formado é chamado de **vacúolo parasitóforo**.



Cultura de células na qual se observa um vacúolo parasitóforo (seta) contendo vários parasitas da espécie *Toxoplasma gondii* (t). N- núcleo da célula, m- mitocôndrias.

Foto: Márcia Attias

Tamanho não é tudo: endocitose específica e não específica

Se uma molécula estiver dispersa no fluido extracelular em quantidades muito pequenas, a célula pode lidar com ela de duas formas:

a) endocitar junto com o líquido, de maneira não específica, de modo que as quantidades captadas serão muito pequenas, quase desprezíveis;

b) endocitar de modo específico, isto é, antes de endocitar, concentrar e separar das demais as moléculas de interesse. As células fazem isso expondo para o meio extracelular receptores que reconhecem e ligam as moléculas que a célula precisa endocitar.

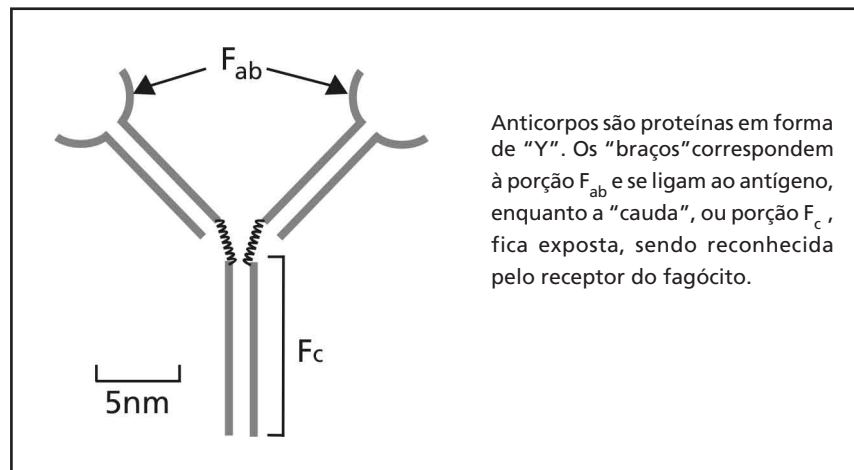
a) É o mesmo princípio de reconhecimento entre receptor e ligante que estudamos na Aula 13.

Temos assim dois tipos de endocitose: do tipo (a), chamada **endocitose de fase fluida** que é inespecífica; e a do tipo (b), que é específica e foi denominada **endocitose mediada por receptor**.

Receptores de endocitose e de sinalização: semelhanças e diferenças

Os receptores de superfície para endocitose e sinalização compartilham muitas características: ao se conectarem a seus ligantes, ambos mudam de conformação, mas as consequências disso são muito diferentes em cada caso. Enquanto os receptores para sinalização permanecem na membrana plasmática e desencadeiam uma cascata de reações no ambiente citoplasmático, os receptores de endocitose vão ser internalizados junto com seu ligante na vesícula endocítica.

O mesmo conceito se aplica à fagocitose. Os **fagócitos profissionais** (veja o texto "Endocitar nem sempre é comer") têm capacidade de reconhecer e fagocitar com eficiência muitos invasores do organismo sem terem tido contato anterior com eles. Por exemplo, macrófagos e neutrófilos têm receptores que se ligam à manose e à galactose, açúcares presentes na parede da maioria das bactérias (**Figura 19.6.a**). Quando o organismo já teve contato com o agente invasor (porque não é o primeiro evento, ou porque houve uma vacinação prévia), e já fez **anticorpos** contra ele, os próprios anticorpos que se ligam na superfície da bactéria ou do protozoário invasor servirão como ligantes para receptores na superfície dos fagócitos (**Figura 19.6.b**). Depois que os anticorpos se ligam nos antígenos do invasor, as porções Fc dos anticorpos (veja o box a seguir sobre os anticorpos) ficam expostas e são reconhecidas por um receptor para Fc que macrófagos e neutrófilos têm, o que faz com que eles fagocitem o invasor com mais eficiência. A fagocitose específica mediada por anticorpos é chamada **fagocitose imunológica**.



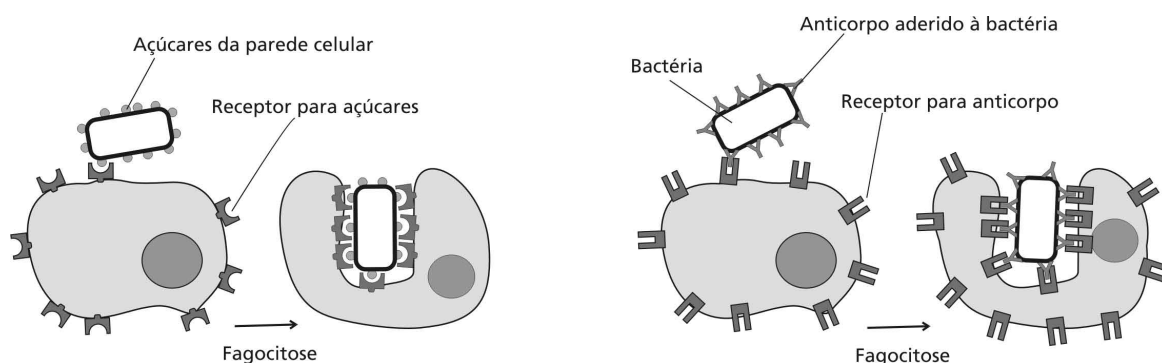


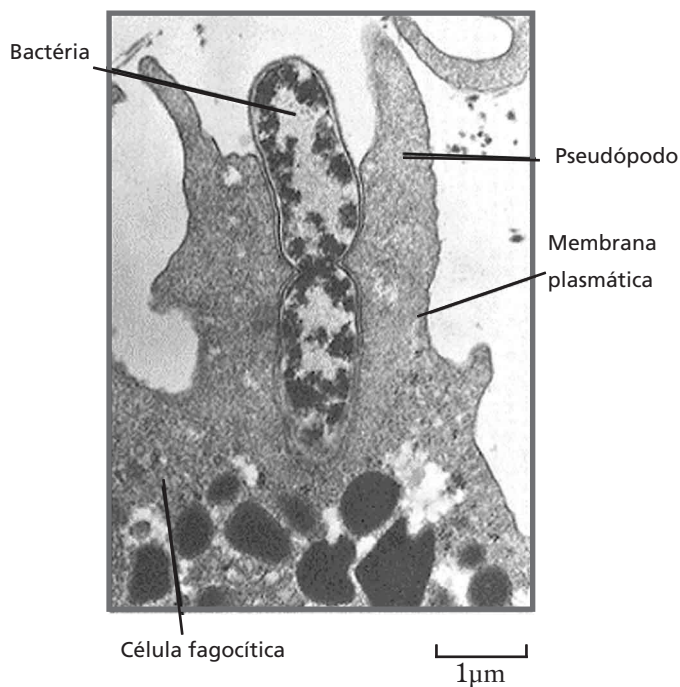
Figura 19.6: Um fagócito profissional pode reconhecer e fagocitar uma bactéria tanto ligando-se a açúcares específicos da parede celular (a) quanto ligando-se a anticorpos secretados que se ligaram à superfície bacteriana (b).

Fagocitose específica

O fagossomo assim formado é bastante justo ao redor da bactéria ou protozoário que está sendo fagocitado, porque à medida que os complexos receptores (no fagócito) e seus ligantes (na bactéria ou protozoário) vão se formando, os pseudópodos vão progredindo ao redor do invasor (**Figura 19.7**), lembrando o fechamento de um zíper. Por isso, a fagocitose específica também é dita fagocitose do tipo zíper.

Macropinocitose

Figura 19.7: Micrografia eletrônica mostrando uma bactéria sendo fagocitada por um neutrófilo. A membrana do fagócito se ajusta em torno da bactéria à medida que ela é internalizada, lembrando o fechamento de um zíper. Foto: Dorothy Bainton.



Como escapar de uma fagocitose

Depois que uma célula é reconhecida pelo fagócito e começam a se formar os complexos receptor-ligante (o zíper começa a se fechar), ela ainda pode escapar se conseguir concentrar seus ligantes numa só região da sua membrana (fenômeno chamado capping – veja aula de Membrana); a formação dos complexos receptor-ligante não prossegue e os pseudópodos não conseguem envolver a “vítima” com eficácia, dando oportunidade para ela escapar (**Figura 19.8**). Muitas vezes, antes de escapar, a célula que ia ser fagocitada solta a pequena porção de sua membrana que contém os complexos ligante-receptor (fenômeno chamado shedding). Esse pedacinho de membrana é internalizado pelo fagócito e a célula escapa. Numa comparação simples, é como se um tubarão agarrasse você pela roupa e você fugisse, nu, mas ileso. Afinal, roupa, sempre se pode comprar outra...

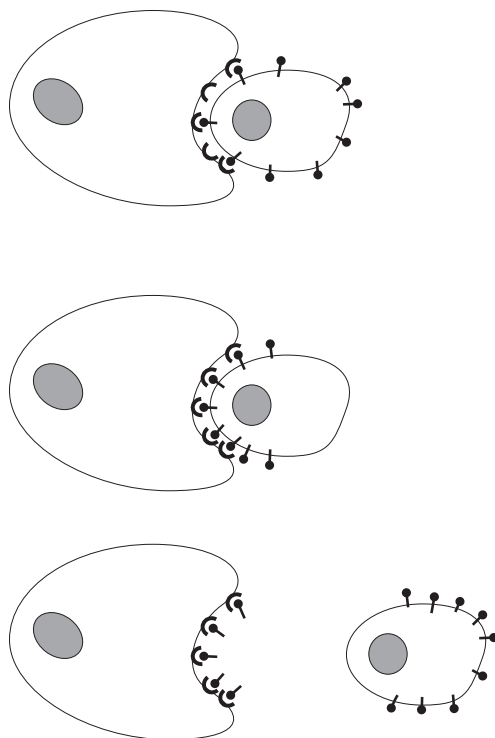


Figura 19.8: Na fagocitose do tipo zíper, se a célula-alvo (a que está sendo fagocitada) conseguir concentrar todos os ligantes de superfície numa área restrita, a célula fagocítica não será capaz de formar o vacúolo endocítico em torno dela.

Existe um outro tipo de fagocitose, de descoberta mais recente, que é bastante característico dos fagócitos profissionais. Essas células se deslocam sempre aderidas ao substrato (a matriz extracelular, *in vivo*, e vidro ou plástico, *in vitro*). Para fazer isso, emitem grandes projeções de membrana plasmática, que vão estabelecendo conexões com o substrato (*esse assunto será tratado também na aula de Junções, em Biologia Celular II*) e depois puxam o resto da célula, como faz um alpinista. Quando a célula, por alguma razão (o ambiente não está favorável, ou há alguma atração em outro lugar), decide não seguir naquela direção, as projeções já emitidas são lançadas para o dorso da célula, dando um aspecto ondulado (*ruffles*). Eventualmente, as pontas dessas projeções podem se fundir com a membrana dorsal da célula, formando assim um vacúolo de dimensões e características semelhantes a um vacúolo fagocítico (Figura 19.9).

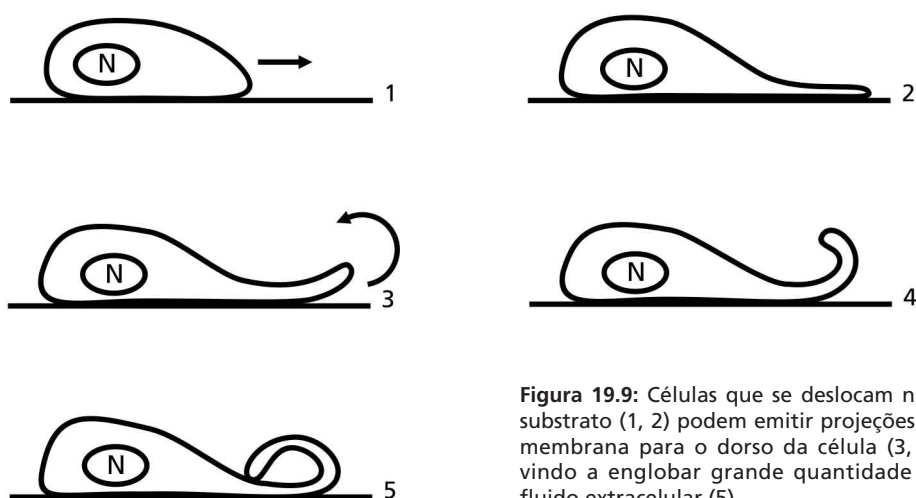


Figura 19.9: Células que se deslocam num substrato (1, 2) podem emitir projeções de membrana para o dorso da célula (3, 4), vindo a englobar grande quantidade de fluido extracelular (5).

No entanto, esse vacúolo não contém material sólido. Assim, nesse processo, a célula só está captando o líquido extracelular e seus solutos, como numa pinocitose. Como as dimensões do vacúolo são muito maiores que as de uma vesícula endocítica e, além disso, ele é formado por projeções de membrana e não por invaginações, esse mecanismo recebeu o nome de **macropinocitose**. Acredita-se que ela torne mais eficaz o trabalho de *vigilância imunológica*, já que os fagócitos podem captar e testar porções do líquido extracelular internalizando menos membrana do que se o mesmo volume fosse captado em pequenas vesículas.

RESUMO

Moléculas ou partículas muito grandes para atravessar a membrana plasmática podem ser internalizadas em vesículas limitadas por membrana. Este processo se chama endocitose.

A endocitose é uma forma de obtenção de alimento para células em geral, inclusive seres unicelulares.

A endocitose também tem por objetivo capturar e destruir organismos invasores, como bactérias. Nesse caso, ela é feita por células do sistema imune chamadas genericamente de fagócitos profissionais.

Os fagócitos profissionais reconhecem tanto moléculas estranhas, como açúcares da parede bacteriana, como anticorpos que tenham se ligado à superfície do organismo invasor.

A seguir a classificação dos tipos de endocitose e suas características básicas:

Endocitose (Pinocitose)	Específica (mediada por receptor)	
	Não-específica (de fase fluida)	
Fagocitose	Específica (tipo zíper)	Imunológica (mediada por anticorpos)
		Não-imunológica (mediada por outros receptores)
	Não-específica (macropinocitose)	

EXERCÍCIOS

1. Que tipos de partícula:
 - a. Atravessam a bicamada lipídica?
 - b. Passam por complexos protéicos na membrana?
 - c. São englobados por endocitose?
2. Quais os objetivos da endocitose?
3. Que tipos de célula endocitam?
4. Como podemos distinguir pinocitose de fagocitose?
5. Na endocitose mediada por receptor, que tipos de molécula atuam como ligante na célula-alvo?
6. O que é macropinocitose? Qual sua utilidade para a célula?

Compartimentos endocíticos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Enumerar os diferentes compartimentos endossomais e suas principais características.
- Explicar o mecanismo de acidificação dos endossomas e sua relevância.
- Explicar a origem e principais características funcionais dos lisossomas.
- Associar a digestão lisossomal à nutrição, defesa e adaptação celular a diferentes condições.
- Citar exemplos das consequências do mau funcionamento do sistema endocítico.

INTRODUÇÃO

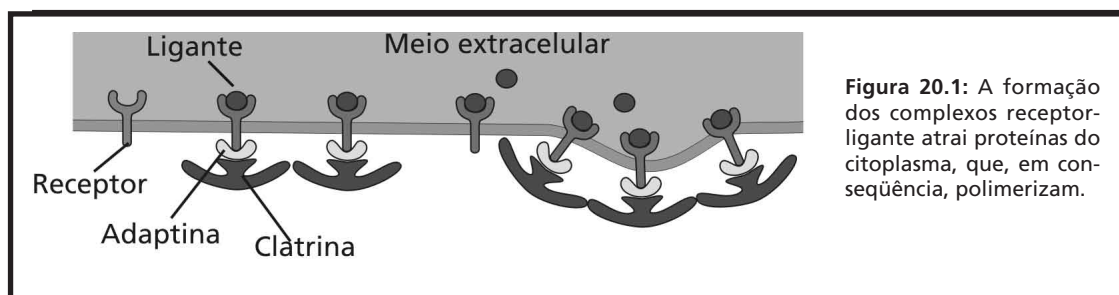
Na última aula você aprendeu que a célula usa a endocitose para captar do meio extracelular moléculas que não atravessam a membrana. A atividade endocítica sempre envolve a formação de uma vesícula que contém o fluido extracelular e as moléculas nele dispersas. Se a endocitose for específica, isto é, mediada por um receptor, o ligante será endocitado com muito mais eficiência. É bom lembrar que aqui os termos ligante e receptor têm o mesmo significado que na Aula 13, com a diferença de que a associação dos dois provoca a endocitose de ambos e não uma cascata de sinalização.

O que significa endocitar com mais eficiência?

Uma endocitose será mais eficiente quando o ligante estiver em concentração muito maior dentro da vesícula endocítica do que no meio extracelular.

Como uma grande quantidade de complexos receptor-ligante pode entrar de uma vez se as vesículas têm sempre o mesmo tamanho? Isso é resultado do melhor aproveitamento da área de membrana endocitada. Se todos os receptores se aproximarem, ficando bem pertinho, vai caber um monte de receptores numa pequena área de membrana e, se os receptores trouxerem com eles os ligantes, também vão caber muito mais ligantes na vesícula.

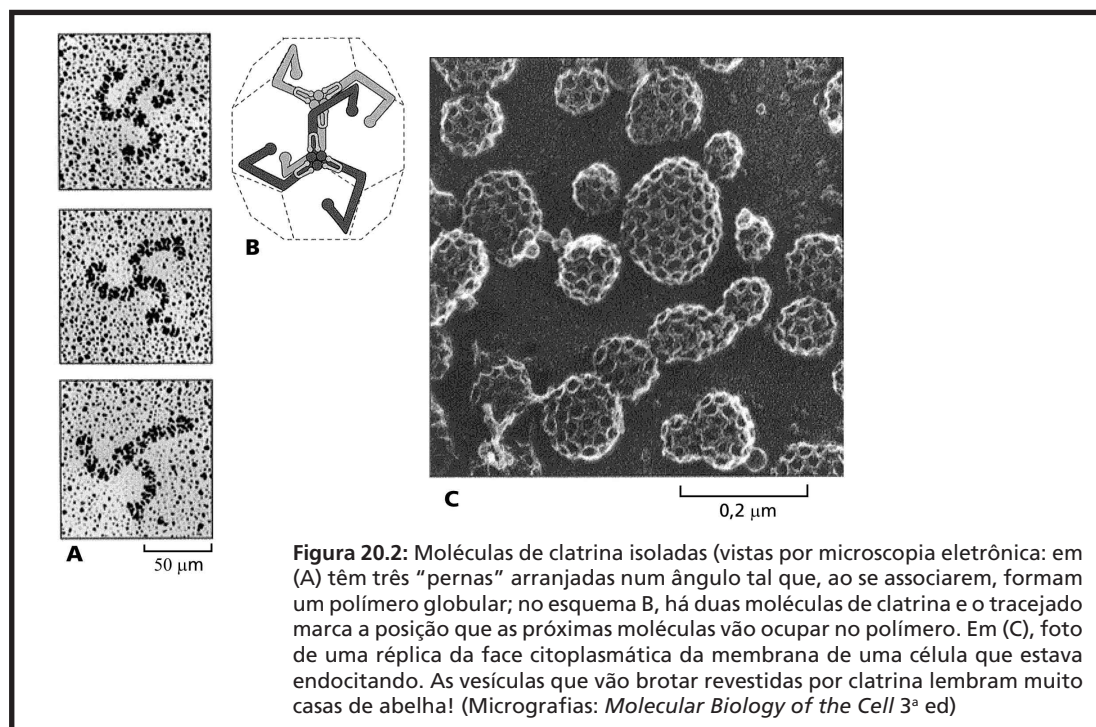
Como os receptores fazem para se aproximar tanto? Isso é o resultado do trabalho de um conjunto de moléculas que se prendem ao domínio citoplasmático dos receptores, agrupando-os e formando um revestimento protéico sob a região da membrana que vai formar a vesícula. O revestimento é constituído principalmente por moléculas de uma proteína, a clatrina, dispersas no citoplasma, pois são atraídas pela formação do complexo receptor-ligante. Na verdade, além da clatrina, são atraídas várias outras moléculas que formam uma ponte entre ela e o receptor, de modo que eles não se ligam diretamente. As principais moléculas que formam a ponte são, muito apropriadamente, chamadas adaptinas (**Figura 20.1**).



Clatrina e a formação da vesícula endocítica

Cada molécula de clatrina é formada por três *pernas* (cada uma formada por duas subunidades) arranjadas de tal maneira que, ao se aproximarem, se associam formando um polímero peculiar por ser tridimensional, sempre do mesmo tamanho e lembrando uma casa de abelhas (Figura 20.2). Pelo seu aspecto de estrela de três pontas, a molécula de clatrina é muitas vezes chamada de *triskelion*.

O polímero de clatrina não é plano; à medida que novas moléculas vão se incorporando, o conjunto vai adquirindo curvatura até formar uma esfera que contém a porção da membrana que está formando uma vesícula (Figura 20.2.B).



Endocitose e futebol possuem mais semelhanças do que você imaginava...

Observe na **Figura 20.3.A** um modelo tridimensional do revestimento de clatrina. A trama formada pelas moléculas de clatrina em torno da vesícula endocítica não lembra uma bola de futebol daquelas oficiais (**Figura 20.3.B**)? É porque, assim como as bolas de futebol, o polímero é formado por pentágonos e hexágonos alternados, o que matematicamente garante que o polímero seja esférico. Esses modelos matemáticos não são raros na natureza.

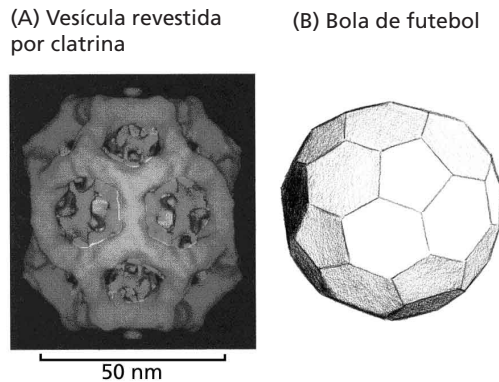


Figura 20.3

O mais importante com relação ao revestimento de clatrina é que ele aumenta a eficiência da endocitose mediada por receptor porque:

- agrupa o maior número possível de complexos receptor-ligante na pequena região da membrana que vai formar a vesícula;
- exclui dessa região moléculas que não devem ser endocitadas, como por exemplo as que devem permanecer na membrana plasmática sempre (você conhece várias: canais iônicos, bomba de sódio e potássio etc.) ou receptores que ainda não receberam o ligante e, portanto, perderiam a função se fossem endocitados.

Qual o papel da clatrina na formação da vesícula endocítica?

Até hoje permanece a dúvida se a formação da rede de clatrina é que “puxa” a membrana, provocando a invaginação que se aprofunda e forma a vesícula. Há argumentos a favor e contra essa idéia. A favor poderíamos dizer que, de fato, o polímero se forma espontaneamente se as subunidades de clatrina se aproximarem o suficiente, e o polímero formado vai assumindo uma forma de esfera. O argumento contra é que na endocitose de fase fluida, portanto não mediada, não há nem a participação de receptor nem a formação do revestimento de clatrina; no entanto, a membrana forma uma invaginação que se aprofunda até se destacar numa vesícula. Nesse caso, o que provocaria a deformação da membrana?

A vesícula endocítica se solta da membrana

Quando o polímero de clatrina está completo e a área de membrana que ele contém já formou uma invaginação profunda, o estrangulamento da invaginação formará uma vesícula revestida por clatrina. Já se conhece o mecanismo molecular responsável por esse estrangulamento: uma proteína chamada dinamina, que é um tipo de proteína G porque liga GTP, forma um colarinho ao redor do pescoço da invaginação. Quando o revestimento de clatrina está completo, a dinamina hidrolisa o GTP, o que diminui o tamanho do filamento e provoca o estrangulamento (**Figura 20.4**).

A maior importância do revestimento de clatrina é a formação da vesícula com altas concentrações de complexos receptor-ligante. Assim que a vesícula revestida se destaca, por ação da dinamina, o revestimento de clatrina se desfaz. O resultado é uma vesícula não revestida, cheia de complexos receptor-ligante. A única diferença entre essa vesícula e uma outra resultante de endocitose de fase fluida é a concentração do conteúdo, que na vesícula formada por fase fluida é igual àquela em que as moléculas se encontram no meio extracelular.

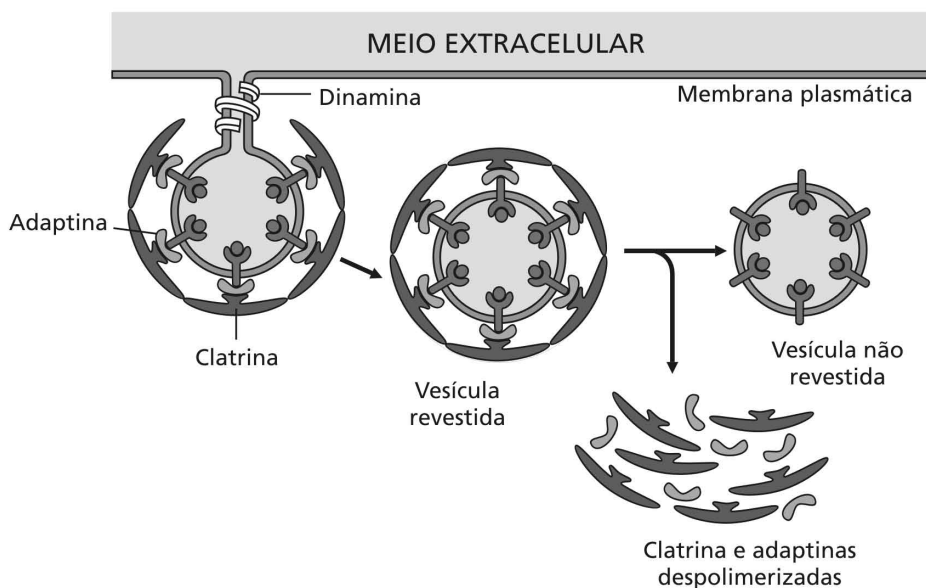


Figura 20.4: Depois que a invaginação revestida por clatrina se aprofunda, a dinamina estrangula o seu “pescoço”, destacando-a da membrana. Por ação de enzimas, assim que a vesícula se destaca o revestimento é desmanchado, e seus componentes ficam dispersos no citossol.

Um pouco de história

O mecanismo de endocitose mediada por receptor com participação do revestimento de clatrina foi descoberto e estudado ainda na década de 1970 por dois médicos, Michael S. Brown e Joseph L. Goldstein, que por isso ganharam o Nobel de Medicina em 1985. Eles estudavam uma doença hereditária, a hipercolesterolemia familiar aguda. As pessoas afetadas pela doença tinham grande acúmulo de colesterol nos vasos sanguíneos, formando placas de ateroma que obstruem os vasos, causando enfartos e isquemias muito precoces, antes dos dois anos de idade. Outros pacientes pareciam ter uma forma mais branda da doença, já que viviam até a idade adulta, mas ainda assim morriam jovens. Os pesquisadores descobriram que os doentes mais graves não conseguiam retirar o colesterol do sangue porque não possuíam o receptor para o transportador sanguíneo de colesterol, a lipoproteína de baixa densidade ou LDL (Figura 20.5).

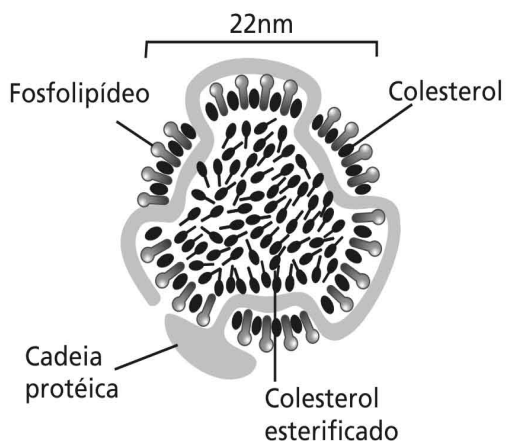
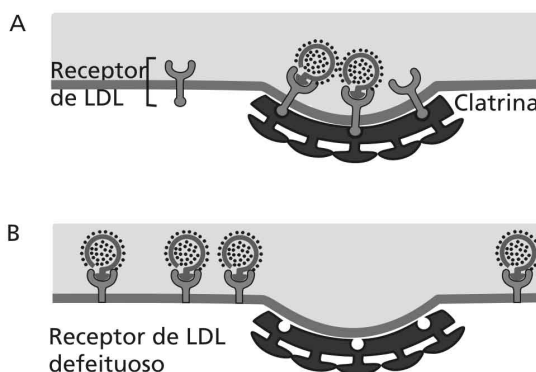


Figura 20.5: Uma partícula de LDL é formada por uma cadeia protéica, moléculas anfipáticas, como colesterol e fosfolípidios, na superfície, e moléculas totalmente hidrofóbicas, como colesterol esterificado e triglicerídeos, no centro da partícula. Com esse arranjo, as moléculas hidrofóbicas podem ser transportadas pela corrente sanguínea.

Figura 20.6: O receptor de LDL defeituoso (B) não consegue se associar ao revestimento de clatrina da mesma maneira que o receptor normal (A).



Os pacientes menos graves possuíam um receptor defeituoso, que ligava LDL em sua porção extracelular, mas não conseguia interagir com o revestimento de clatrina porque não tinha a porção citoplasmática (**Figura 20.6**). Assim, a eficiência da endocitose era muito menor do que com receptores normais (**Figura 20.7**).

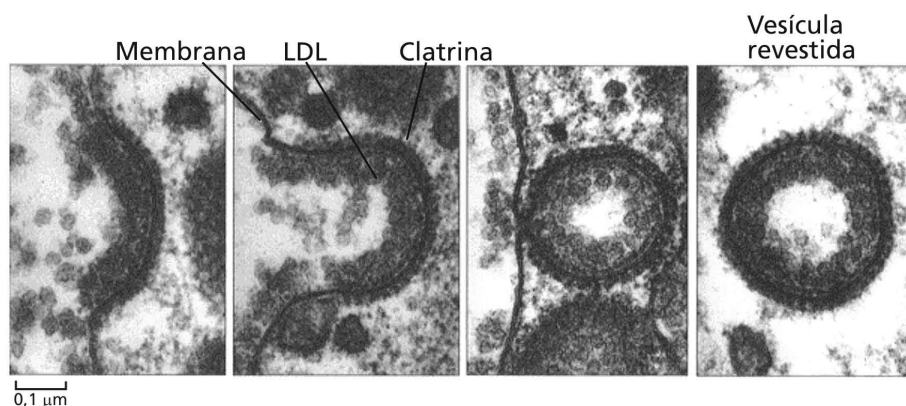


Figura 20.7: Micrografia eletrônica da formação de uma vesícula revestida por clatrina contendo complexos de LDL e seu receptor.

As vesículas endocíticas se fundem

Uma vez desfeito o revestimento de clatrina, ou mesmo se a vesícula nunca teve revestimento porque resultou de endocitose não mediada, o próximo passo é a fusão da vesícula com um compartimento que, por ser o primeiro compartimento que recebe as macromoléculas endocitadas, é chamado **endossoma inicial** (**Figura 20.8**). O endossoma inicial é um compartimento bastante ramificado e as vesículas endocíticas descarregam nele seu conteúdo pouco tempo depois (cerca de 5 a 10 min a 37°C) de tê-lo adquirido do meio extracelular.

Entrando e saindo sem ser incomodado

Em células polarizadas existe um mecanismo de transporte de macromoléculas que mistura endocitose com secreção (exocitose). Um dos mais conhecidos exemplos deste mecanismo é a aquisição de anticorpos por camundongos recém-nascidos a partir do leite da mãe. A luz do intestino, onde o leite está, tem pH ácido. Neste pH, um receptor da superfície apical das células epiteliais do intestino reconhece as moléculas de imunoglobulina e as endocita em vesículas revestidas por clatrina. Depois de desfazer o revestimento de clatrina, as vesículas vão se fundir com o domínio basolateral da membrana da célula, expondo os complexos receptor-imunoglobulina ao meio extracelular que banha o domínio basolateral, que tem pH 7,0. No pH neutro, o receptor não tem mais afinidade pela imunoglobulina, soltando-a. Assim, as moléculas de anticorpo, que vieram no leite materno, atravessam as células que revestem o intestino do filhote sem sofrerem qualquer modificação e chegam à sua corrente sanguínea, de onde são distribuídas por todo o organismo. Esse mecanismo recebe o nome de transcitose.

A principal característica do endossoma inicial é o seu pH, ligeiramente acidificado como resultado da atividade de uma bomba de prótons característica da via endocítica. Essa bomba de prótons hidrolisa ATP para transportar prótons do citoplasma para dentro dos compartimentos endocíticos. Ela é conhecida como **ATPase vacuolar** ou **V-H⁺-ATPase**. Assim, o pH do endossoma inicial é de cerca de 6,5.

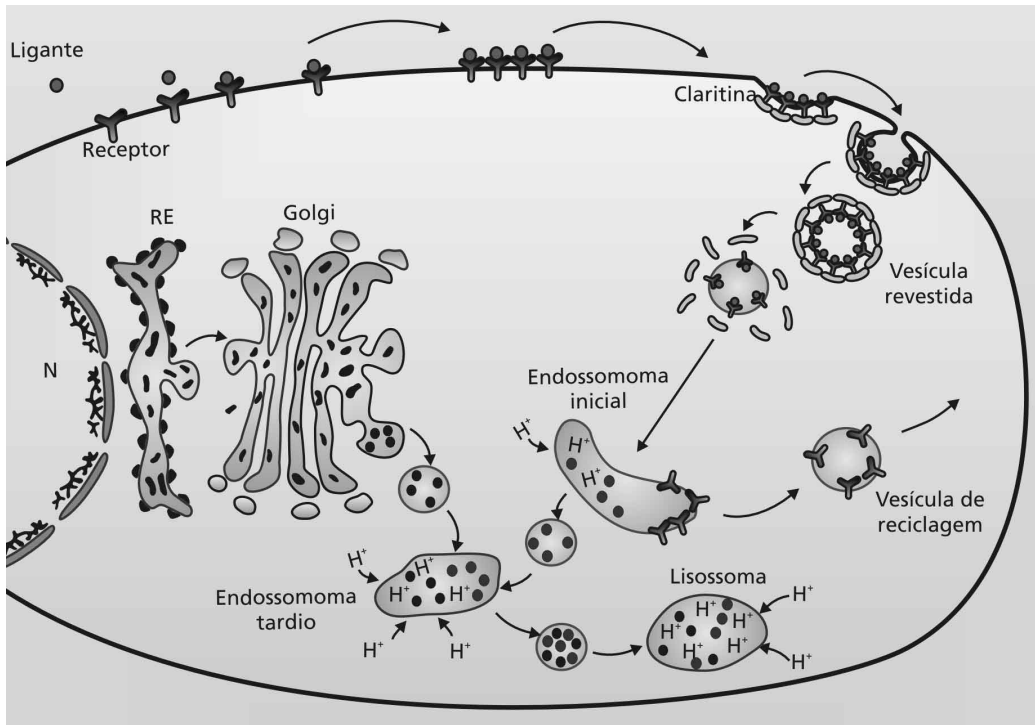


Figura 20.8: Desenho esquemático da via endocítica mediada por receptor. Os complexos receptor-ligante se agrupam e, com auxílio do revestimento de clatrina, são endocitados com grande eficiência, passando aos compartimentos que formam a via endocítica. O núcleo (N), o retículo endoplasmático (RE) e o complexo de Golgi também estão representados, apesar de não fazerem parte da via. (Desenho original de Isabel Porto Carreiro.)

Ligantes e receptores se separam

Quando chegam ao endossoma inicial e encontram o pH ligeiramente ácido, tanto o receptor quanto o ligante mudam de conformação, causando o desacoplamento dos complexos. A partir daí, ligante e receptor seguirão caminhos diferentes: enquanto o ligante prosseguirá na via endocítica, a maioria dos receptores passará a outro compartimento, as **vesículas de reciclagem** (ou endossoma de reciclagem), que retornam à membrana plasmática, tornando a expor os receptores na superfície, onde poderão participar de novo evento endocítico (Figura 20.8).

Ligantes e receptores nem sempre se separam!

Além do colesterol associado a seu transportador, o LDL, outras moléculas essenciais para as células também são captadas por endocitose mediada por receptor. Uma das mais estudadas é a endocitose da molécula que transporta ferro na corrente sanguínea, a transferrina. A transferrina ligada a ferro é chamada holotransferrina e é reconhecida por um receptor presente na maioria das células eucarióticas. A endocitose se dá pelo mecanismo, que você já conhece, de formação de vesículas revestidas por clatrina. Depois do revestimento desfeito, as vesículas se fundem com o endossoma inicial e, no pH 6,5 desse compartimento, a holotransferrina libera os átomos de ferro, que são ativamente bombeados para o citoplasma, tornando-se apotransferrina (transferrina sem ferro). Diferentemente do que ocorre com o LDL, o receptor tem afinidade por apotransferrina (não por holotransferrina!) em pH ácido. Ainda acoplados, receptor e apotransferrina seguem de volta para a membrana plasmática. Ao atingirem a superfície celular, reencontram o pH do meio extracelular, de 7,2-7,4. Nesse pH, o receptor não tem afinidade por apotransferrina e o complexo se desfaz. A apotransferrina vai ligar outros átomos de ferro e o receptor livre vai poder ligar holotransferrina, com quem tem grande afinidade no pH do meio extracelular. Sem dúvida nenhuma, é bastante econômico devolver a transferrina ao meio extracelular para que a mesma molécula possa transportar muitos átomos de ferro, entrando e saindo da célula várias vezes. Por causa desse trânsito intracelular peculiar, o complexo receptor-transferrina tem sido considerado marcador de endossoma inicial em células de mamífero (**Figura 20.9**).

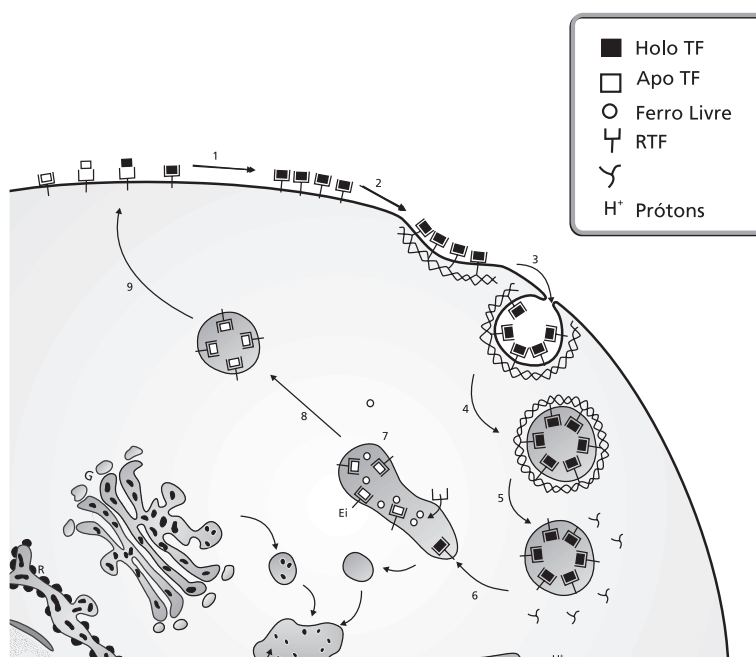


Figura 20.9: Os receptores ligam holotransferrina na superfície da célula (1) e são agrupados (2) em vesículas revestidas por clatrina (2-4). Depois que a vesícula se destaca (5), o revestimento despolimeriza (6) e a vesícula se funde com o endossoma inicial (Ei). Por causa do pH 6,5 desse compartimento, o ferro se solta da transferrina (7) e é bombeado para o citoplasma. A apotransferrina e o receptor voltam para a superfície (8-9), onde se soltam. Note que, nesse mecanismo de captação de ferro em células de mamífero, nem a transferrina, nem o ferro atingem o endossoma tardio (Et) e muito menos o lisossoma (L). (Desenho original de Flavia Moreira Leite.)

O endossoma tardio

Os ligantes, agora já desligados dos receptores, saíram do endossoma inicial em vesículas carreadoras pequenas e ácidas, que só se fundem com o próximo compartimento da via endocítica, o **endossoma tardio** (Figura 20.8). A bomba de prótons também está presente na membrana desse compartimento e faz com que o pH interno do endossoma tardio seja ainda mais baixo que o do endossoma inicial, cerca de 6,0. Além de receber as vesículas do endossoma inicial que trazem o material endocitado, o endossoma tardio também recebe as enzimas lisossomais que chegam do complexo de Golgi em vesículas transportadoras.

Você deve lembrar que as enzimas lisossomais são sintetizadas no retículo endoplasmático e são glicosiladas ao passar pelo Golgi, possuindo a árvore glicídica completa até ácido siálico, não? Lembra também que a maioria das glicoproteínas produzidas ao longo da via secretória (retículo endoplasmático – complexo de Golgi) segue em vesículas para a membrana plasmática e o meio extracelular. Como será que as enzimas lisossomais são desviadas desse caminho? A resposta está numa pequena diferença entre a árvore glicídica dessas enzimas e a das outras glicoproteínas: pelo menos algumas das manoses acrescentadas às enzimas lisossomais são fosfatadas, isto é, ficam diferentes das manoses comuns porque recebem um grupamento fosfato ligado ao carbono 6, sendo por isso chamadas manoses-6P (lê-se manose seis fosfato). Enquanto percorrem o complexo de Golgi, são reconhecidas por um receptor voltado para o lúmen que reconhece especificamente as glicoproteínas que têm manose-6P. A partir desse reconhecimento, a enzima lisossomal vai continuar a ser glicosilada normalmente, mas sempre ligada ao receptor. Chegando à rede trans do Golgi, os complexos receptor-manose-6P são reunidos em uma pequena região (com ajuda de clatrina!), de onde brotará uma vesícula que levará as enzimas ao endossoma tardio (Figura 20.10).

No endossoma tardio, o pH é 6,0, ácido o suficiente para que os complexos receptor-enzima se desacoplem. Assim, a enzima vai ter o fosfato retirado da manose, enquanto os receptores, agora desocupados, vão voltar ao complexo de Golgi em uma vesícula. Chegando ao complexo de Golgi, esses receptores *pescarão* outras enzimas lisossomais para levar ao endossoma tardio.

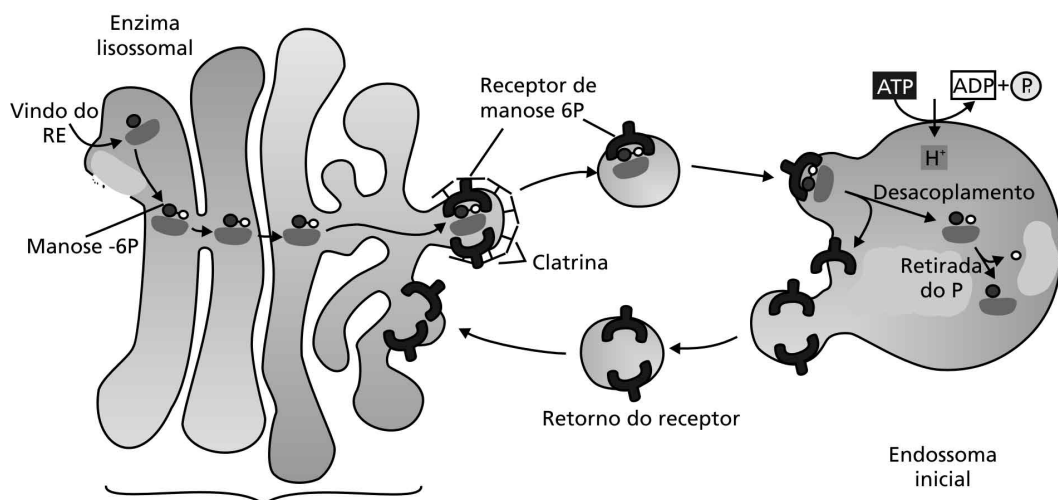


Figura 20.10: As enzimas lisossomais marcadas por manose-6P são reconhecidas por receptores de manose-6P e levadas ao endossoma tardio acopladas a eles. Lá chegando, encontram o pH ácido, o que provoca o desacoplamento. O receptor desocupado retorna ao Golgi, enquanto a enzima tem o fosfato retirado.

Você pode perceber que o material endocitado e as enzimas lisossomais se encontraram no endossoma tardio e que, portanto, a digestão enzimática pode começar aí. De fato começa, mas muito devagar, por duas razões: a primeira é que o pH 6,0 não é o pH ótimo dessas enzimas, assim, elas funcionam com menor velocidade; a segunda razão é que muitas enzimas lisossomais são sintetizadas na forma de uma **proenzima**, que tem alguns aminoácidos a mais. A região *pro* da enzima é como uma trava que não deixa a enzima funcionar, dessa forma, ela não sairá digerindo tudo pelo caminho. Essa trava precisa ser cortada para que a enzima funcione. O corte é feito por proteases lisossomais que já estão ativas, ou seja, já tiveram a porção *pro* cortada.

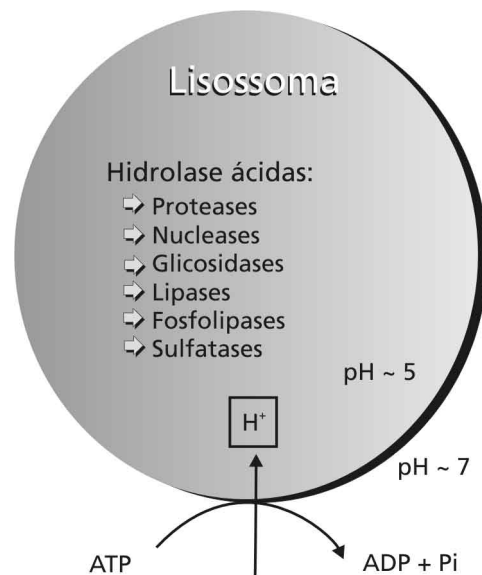
O endossoma tardio de células de mamífero é caracterizado pelo pH 6,0, pela presença de material endocitado junto com enzimas lisossomais, a maioria ainda inativa, e pela presença do receptor para manose-6P. Dentro do endossoma tardio, freqüentemente, são vistas membranas formando reentrâncias e vesículas internas. Nas células em que isso ocorre, o endossoma tardio também é chamado corpo multivesicular. O significado dessa morfologia peculiar ainda é discutido, mas especula-se que facilite a digestão de membranas provenientes de outros compartimentos.

O lisossoma

Tanto as enzimas como as moléculas endocitadas serão finalmente levadas por vesículas ao último compartimento da via endocítica, o **lisossoma**. Os lisossomos são compartimentos de pequeno volume e numerosos, sendo mais freqüentemente encontrados na região perinuclear. São bastante ácidos, também por ação da ATPase vacuolar, apresentando pH interno entre 4,5 e 5,0. Nesse pH, as enzimas lisossomais tornam-se ativadas, porque suas porções *pro* foram retiradas, e passam a funcionar a pleno vapor.

Que enzimas existem no lisossoma? Confira na **Figura 20.11**.

Figura 20.11: Os lisossomas têm enzimas capazes de hidrolisar praticamente todos os tipos de macromolécula e essas enzimas têm funcionamento ótimo em pH ácido.



Como você pode verificar, as enzimas lisossomais podem hidrolisar ácidos nucléicos, proteínas, açúcares, lipídios, fosfolipídios, proteoglicanas etc. Será que eles precisam mesmo de tudo isso? Se pensarmos apenas na endocitose de moléculas (pinocitose), algumas dessas enzimas seriam usadas muito raramente, mas os lisossomas também digerem freqüentemente partículas maiores capturadas por fagocitose. Não se pode esquecer dos fagócitos profissionais, responsáveis pela remoção de células velhas, defeituosas ou estranhas ao organismo, como bactérias. Essas células não fagocitam apenas para obter nutrientes (mas é claro que elas usam as moléculas resultantes da digestão de suas presas).

Nesse caso, a bomba de prótons vai ser inserida na membrana do vacúolo fagocítico e logo começará a acidificar o lúmen do fagossoma. Em poucos minutos, lisossomas já formados, ou vesículas transportadoras de enzimas lisossomais provenientes do Golgi, se fundirão ao vacúolo, descarregando seu conteúdo. A partir daí, o vacúolo fagocítico passa a ser denominado **fagolisossoma** e terá condições de digerir todos os componentes da célula que tenha sido fagocitada.

Afinal, os nutrientes chegam ao citoplasma

A ação das enzimas lisossomais reduz as macromoléculas a seus componentes mais simples, ou seja, reduz proteínas a aminoácidos, nucleotídeos a bases nitrogenadas e açúcares etc. Os produtos da digestão lisossomal são transportados para o citoplasma por translocadores específicos e então aproveitados pelas células. Uma partícula de LDL, por exemplo, terá os ácidos graxos dos triglicerídios usados como combustível mitocondrial na produção de ATP, ou usados no retículo endoplasmático liso, assim como o colesterol, para produzir membrana nova ou como precursor de outras moléculas.

Mas existem moléculas que os lisossomas não conseguem digerir. Essas moléculas podem ter dois destinos: a) serem excretadas; para isso, o lisossoma faz exocitose descarregando o conteúdo no meio extracelular e incorporando sua membrana à membrana plasmática; b) ficarem acumuladas dentro do lisossoma, o que diminui sua capacidade funcional, podendo até mesmo deixar de funcionar de tão *entupido*; um lisossoma carregado de material não-digerível é chamado **corpo residual**. Nos dois casos isso pode acarretar sérios problemas de saúde, resultando em **doenças de armazenamento**. Você encontra vários desses problemas e situações detalhados nos boxes adiante.

Doenças lisossomais

Quando alguma enzima lisossomal não funciona, seu substrato não digerido se acumula. Isso acontece em muitas doenças. Entre as mais conhecidas estão a doença de Hurler, cujos portadores não digerem glicosaminoglicanas. Os portadores da doença de Tay-Sachs acumulam um tipo de glicolípido, os gangliosídeos, enquanto os portadores da doença de Gaucher acumulam outro tipo, os cerebrosídeos. A Síndrome de Niemann-Pick engloba várias lipidoses e seus portadores não digerem colesterol ou esfingomielinina. A forma mais grave de doença lisossomal é a doença da célula I (o I se deve ao acúmulo de corpos de inclusão). Os portadores dessa doença têm apenas um gene defeituoso (felizmente recessivo!), acarretando a ausência da enzima que fosforila a manose no carbono 6. Assim, as enzimas lisossomais não são reconhecidas pelo receptor de manose-6P no Golgi e não são dirigidas à via endocítica, e sim secretadas. Por isso, os portadores da doença da célula I são diagnosticados pela presença de várias enzimas lisossomais na corrente sanguínea.

Importância dos lisossomas em macrófagos

Os macrófagos, por serem fagócitos muito ativos, freqüentemente fagocitam materiais que não podem digerir. Os macrófagos pulmonares são vítimas da fagocitose, voluntária ou involuntária, de partículas em suspensão no ar, provenientes do fumo ou da poluição do ar. Os lisossomas de macrófagos pulmonares de fumantes podem chegar a ter tantos corpos residuais que acabam morrendo e provocando grandes reações inflamatórias no tecido pulmonar, formando áreas necrosadas. Algumas doenças "profissionais" também possuem o mesmo mecanismo, como a silicose, que atinge trabalhadores de indústrias de vidro, amianto ou que utilizam jateamento de areia. Esses profissionais inalam partículas de sílica, que são fagocitadas por macrófagos pulmonares e não são digeridas. Com o tempo, o acúmulo de partículas no pulmão causa uma grande reação inflamatória, reduzindo drasticamente a capacidade pulmonar dessas pessoas, causando sua morte.

Tatuagens: menos inofensivas do que parecem

Um outro exemplo, menos dramático, de substância que os lisossomas não conseguem digerir é a tinta usada nas tatuagens. É por isso que os desenhos se tornam permanentes, os pigmentos ficam sendo repetidamente fagocitados por gerações e gerações de macrófagos e outras células do sistema imune, que não conseguem digeri-los. Isso acaba gerando duas conseqüências: os indivíduos tatuados acabam desenvolvendo anticorpos específicos e, ao longo dos anos, as tatuagens acabam ficando um tanto borradas, pela migração de macrófagos para regiões periféricas ao desenho inicial.

Por que os lisossomos não se autodigerem?

Se os lisossomos possuem enzimas capazes de digerir fosfolipídios, por que não digerem sua própria membrana? A resposta está nas glicoproteínas dessa membrana. As proteínas da membrana lisossomal voltadas para o lúmen são fortemente glicosiladas e suas árvores glicídicas terminam em ácido siálico. A enzima capaz de retirar o ácido siálico, a sialidase (ou neuraminidase) é a única glicosidase que não está presente no lisossoma. Assim, as outras enzimas, capazes de danificar a membrana lisossomal, simplesmente não têm acesso a ela (Figura 20.12).

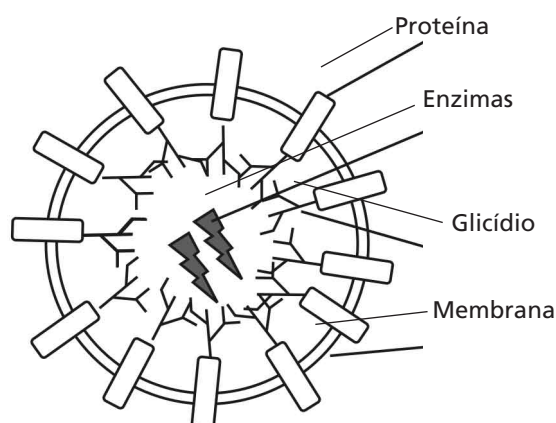


Figura 20.12: A árvore glicídica das glicoproteínas da membrana lisossomal impedem que as enzimas lisossomais ataquem a membrana da própria organela.

Os lisossomas e o estado funcional de uma célula

Os lisossomas também servem para degradar organelas inteiras que tenham envelhecido ou estejam sobrando. O exemplo mais conhecido é o do aumento do número de mitocôndrias decorrente de uma grande demanda de ATP por tempo prolongado. Se a necessidade de ATP diminuir, a diminuição do número de mitocôndrias é feita por **autofagia**, fenômeno em que as organelas a serem destruídas são envolvidas por perfis de membrana do retículo, que criam um ambiente protegido onde os lisossomas podem fundir, descarregando as enzimas lisossomais. Na **Figura 20.13**, foram resumidas as principais vias endocíticas que envolvem a participação de lisossomas.

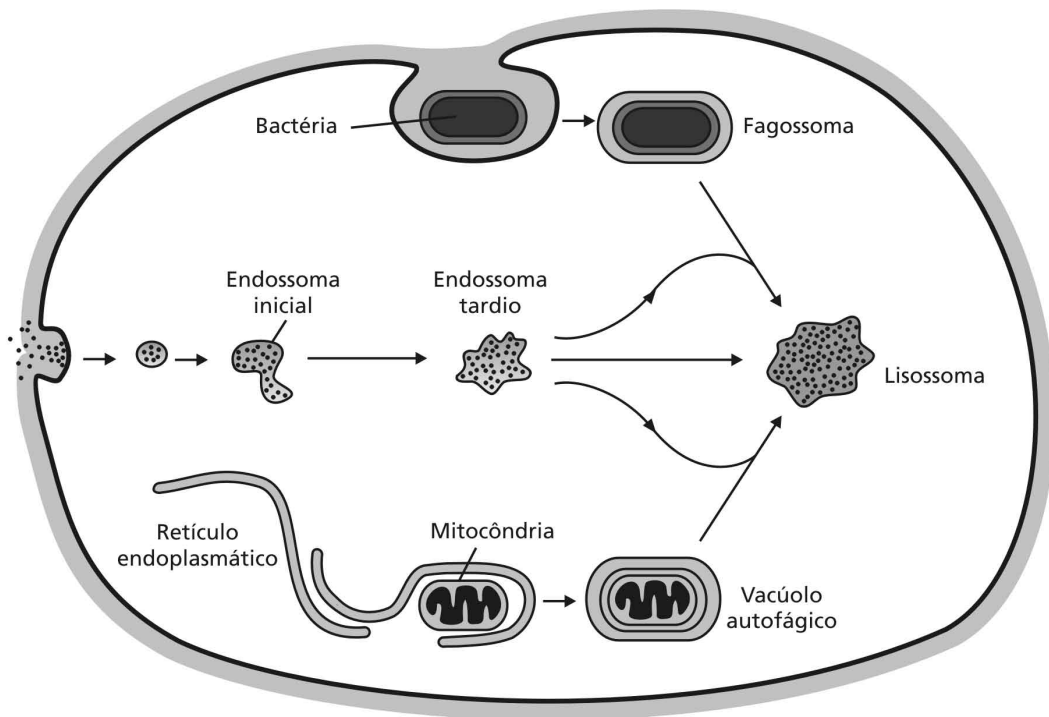


Figura 20.13: Os lisossomas são o último compartimento da via endocítica. Para eles, convergem e se fundem os fagossomas, os endossomas contendo moléculas endocitadas via receptor ou por fase fluida e vacúolos autofágicos contendo organelas que estejam velhas ou sobrando.

RESUMO

- A endocitose mediada por receptor é mais eficiente porque os complexos receptor-ligante ficam concentrados em pequenas vesículas.
- A concentração dos complexos receptor-ligante é resultante da formação do revestimento de clatrina, cuja função é reunir numa pequena área de membrana as moléculas que devem ser endocitadas, excluindo as que não devem.
- O revestimento de clatrina é desfeito assim que a vesícula se destaca da membrana.
- A vesícula endocítica se funde com o endossoma inicial, descarregando nele seu conteúdo.
- Como o pH do endossoma é mais baixo (6,5), os complexos receptor-ligante se desassociam.
- Enquanto os receptores retornam à membrana em vesículas de reciclagem, os ligantes seguem para o endossoma tardio.
- Além dos ligantes, o endossoma tardio recebe as enzimas lisossomais que vieram do Golgi acopladas ao receptor de manose-6P.
- O pH do endossoma tardio é mais baixo ainda (6,0), fazendo com que as enzimas lisossomais e os receptores de manose-6P se soltem. Os receptores voltam para o Golgi.
- Apesar do baixo pH no endossoma tardio, a maioria das enzimas lisossomais ainda não funciona, porque ainda estão travadas pela região pro.
- Tanto enzimas como ligantes seguirão para os lisossomas, onde o pH é o mais baixo da via endocítica, estando entre 5,0 e 4,5. Nos lisossomas, as enzimas são destravadas e funcionam plenamente.

EXERCÍCIOS

1. Qual a principal vantagem da endocitose mediada por receptor em relação à endocitose de fase fluida?
2. Como os complexos receptor-ligantes são reunidos em uma área da membrana?
3. Como é a molécula de clatrina? Como é o polímero formado por ela?
4. Como a vesícula revestida por clatrina se solta da membrana plasmática?
5. O que é um endossoma inicial?
6. O que acontece nesse compartimento?
7. O que torna o endossoma ácido?
8. O que é o endossoma tardio?
9. De onde vêm as enzimas lisossomais? Como são endereçadas aos compartimentos endocíticos?
10. Por que as enzimas lisossomais não digerem as proteínas do próprio lisossoma?
11. O que são doenças de armazenamento?
12. O que é autofagia? Como se forma o vacúolo autofágico?

Biologia Celular I

Gabbarito

1.

a) Receptor: proteína presente na membrana ou no citoplasma de uma célula que é capaz de reconhecer um ligante especificamente, disparando um evento celular.

b) Ligante: molécula secretada ou exposta na membrana de uma célula, que é reconhecida por um receptor, ligando-se a ele.

c) Molécula sinalizadora: corresponde ao ligante.

d) Célula-alvo: é a célula que possui o receptor para um determinado ligante.

2. Na parácrina, o sinalizador tem vida curta e se dissemina apenas entre as células mais próximas. Já a sinalização autócrina é aquela em que a própria célula que secreta o sinalizador é afetada por ele.

3. Na sinalização endócrina, a molécula sinalizadora “dura” bastante e atinge células muito distantes do local onde é produzida. A sinalização neuronal é um tipo de sinalização parácrina, mas como os neurônios possuem longos prolongamentos – os axônios – a molécula sinalizadora pode atingir células muito distantes do corpo celular onde ele é produzido.

4. Todas estão corretas.

5. Deve ser uma molécula pequena e hidrofóbica para que possa atravessar a bicamada lipídica.

6. Porque, uma vez dentro da célula-alvo, os hormônios formam um complexo com uma proteína citoplasmática e são transportados para o núcleo, onde terminam por ativar um ou mais genes. Até que os efeitos da(s) proteína(s) codificada(s) por aquele gene sejam aparentes, leva algum tempo.

7.

a) abrindo um canal iônico;

b) ligando-se a um receptor extracelular que ativa uma proteína G intracelular;

c) ligando-se a um receptor enzimático.

8. A acetilcolina, secretada por neurônios motores, e o receptor de acetilcolina, presente nas membranas das células musculares esqueléticas.

9. São proteínas que ligam GTP, hidrolisando-o a GDP e Pi. Esta alternância entre ligação a GTP e GDP funciona como um sinal liga/desliga para a proteína, disparando vários eventos.

10. GIs atuam inibindo a atividade de outras proteínas. GEs atuam estimulando a atividade de outras proteínas.

Aula 14

1. Dentro da célula, isto é, no citossol.

2. Sempre na superfície da membrana voltada para o meio extracelular.

3. Canais ativados por ligante e os que estimulam a proteína G.

4. O receptor de acetilcolina é um canal ativado por ligante. A proteína G pode ativar a adenilciclase hidrolisando ATP a AMPc, que ativa muitas enzimas citoplasmáticas.

5. É uma proteína que fosforila (= adiciona um fosfato) a uma molécula.

6. A adenilciclase hidrolisa ATP a AMPc, que por sua vez ativa uma enzima como a PKA, uma quinase que fosforila outras proteínas.

Ao ser ativada pela proteína G, a fosfolipase C cliva o PIP2 em IP3 e DAG. O IP3 libera cálcio armazenado no retículo endoplasmático. Já o DAG recruta o PKC no citossol. O PKC se tornará ativo ao combinar-se com o cálcio liberado pela IP3.

7. São moléculas, como o cálcio, que disparam efeitos celulares. Embora eles não sejam as moléculas sinalizadoras, sua presença é consequência da cascata de reações disparada por estas. O cálcio, ou outro mensageiro secundário, tanto pode ser a última molécula a sinalizar uma atividade celular, no citoesqueleto, por exemplo, quanto ser um mero intermediário numa cascata que prossegue ainda por vários degraus (moléculas).

8. É mantida baixa pelo bombeamento ativo para a luz do retículo endoplasmático ou para o meio extracelular. Também pode ser trocado, sem gasto adicional de energia, por sódio, num esquema de antiporte.

9. É uma sequência em que a partir de um primeiro reconhecimento entre um ligante e seu receptor, moléculas passam a ser ativadas em série, com um efeito dominó.

A grande vantagem é a amplificação do sinal inicial, isto é, uma molécula ativa duas, que ativarão quatro, e assim por diante, resultando na ativação final de muitas moléculas a partir de umas poucas inicialmente utilizadas.

Aula 15

1. Pela invaginação de membranas a partir da superfície e pelo englobamento (endocitose) de outros organismos primitivos.

2. Meio intracelular, ou citossol, espaço intranuclear e os compartimentos internos limitados pelas membranas do retículo endoplasmático, complexo de Golgi, mitocôndrias, plastídeos, peroxissomos, lisossomas e vesículas de endocitose e de secreção.

3.

2 μm

1,5 μm

1 μm

Área: $2 + 2 + 3 + 3 + 1,5 + 1,5 = 13 \mu\text{m}^2$

Volume: $1,5 \times 2 \times 1 = 3 \mu\text{m}^3$

4. Área: $2 (15 \times 20) + 2 (12 \times 10) + 2 (10 \times 10) = 1040 \mu\text{m}^2$

Volume: $15 \times 20 \times 10 = 3000 \mu\text{m}^3$

relação $\text{Área}_2 / \text{Área}_1 = 1040 / 13 = 80$

relação $\text{Volume}_2 / \text{Volume}_1 = 3000 / 3 = 1000$

O volume da segunda célula é mil vezes maior do que o da primeira!

5. Se a superfície se *dobrar*, formando vilosidades ou invaginações.

6. Entram já na sua forma final, enovelada, através de *comportas*, os chamados complexos do poro.

7. Essas proteínas possuem seqüências de endereçamento e passam por complexos translocadores existentes na membrana dessas organelas.

8. Por vesículas que brotam de um lugar para o seguinte.

9. Não, de acordo com a proteína que está sendo sintetizada eles permanecem livres ou se aderem ao retículo.

10. É uma sequência de aminoácidos que *informa* o destino de uma proteína que começa a ser sintetizada.

Aula 16

1. Síntese de proteínas transmembrana, de secreção e proteínas lisossomais e também síntese da bicamada lipídica.

2. Porque os ribossomos não permanecem aderidos em caráter permanente à membrana do retículo.

3. Nenhuma. Os ribossomos são todos iguais, ao iniciarem a leitura de um RNAm é que eles são ou não direcionados para o retículo, se existir uma sequência de endereçamento codificada naquele RNAm.

4. Existe no citoplasma uma proteína solúvel, a SRP (sequência reconhecedora de sinal) que se liga à sequência sinal de aminoácidos e só se desliga dela depois de se ancorar a um receptor da membrana do retículo.

5. A cadeia de aminoácidos passa através de um complexo de proteínas translocadoras, o translocon.

6. Sequências de aminoácidos hidrofóbicos impedem que ela prossiga “entrando” no retículo, assim, uma parte da cadeia fica exposta no citossol.

7. É enzimaticamente cortada.

8. Sua sequência de aminoácidos alterna sequências hidrofóbicas e sequências hidrofílicas, que funcionam como pontos de início e parada da passagem pela cadeia através da bicamada.

9. Os lipídeos são sintetizados no citossol e se inserem na membrana do retículo sempre do lado citossólico. As enzimas chamadas scramblases transferem alguns lipídeos para o folheto da membrana voltado para luz do retículo, de modo que os dois folhetos cresçam homogeneamente.

10. São transportados um a um a partir da membrana do retículo liso.

Aula 17

1. O complexo de Golgi está sempre localizado na região perinuclear da célula. Ele pode ser visto em microscopia de fluorescência localizando-se moléculas que só estão presentes ali ou pela impregnação pela prata, método desenvolvido por Cajal e Golgi, quando pela primeira vez esta organela foi descrita. Em microscopia eletrônica, o complexo de Golgi tem um aspecto típico de cisternas empilhadas às quais se fundem ou brotam vesículas.

2. As proteínas que são sintetizadas no retículo endoplasmático são transferidas para o Golgi em vesículas que brotam do retículo e se fundem à face cis, ou de entrada, do Golgi. Depois de passar através das lamelas mediais, as proteínas saem em vesículas que brotam na face trans ou de saída do Golgi.

3. Porque os açúcares precisam ser acrescentados e cortados na ordem certa, caso contrário a proteína não será corretamente endereçada.

4. a) Glicosilação de proteínas consiste em acrescentar árvores glicídicas a determinados aminoácidos da cadeia protéica.

b) Participar da síntese de proteoglicanas, adicionando grupamentos sulfato a proteínas.

c) distribuir as macromoléculas provenientes do retículo endoplasmático entre a membrana plasmática, onde tais moléculas se incorporarão ou serão secretadas; ou vesículas de secreção que se acumulam no citoplasma esperando um sinal para exocitarem seu conteúdo; ou lisossomos.

5. Tipo N- começa no retículo. Os açúcares se ligam sempre ao aminoácido asparagina. Tipo O- começa no Golgi. Os açúcares se ligam a um aminoácido treonina ou serina.

Aula 18

1. Erro na correta seqüência de aminoácidos e no dobramento da proteína, expondo sítios hidrofóbicos e também impedindo a correta glicosilação da mesma.

2. São proteínas que, com gasto de ATP, se ligam a cadeias protéicas em formação, ajudando no seu correto enovelamento. Porque quando a célula sofre um choque térmico aumenta a síntese de proteínas com defeito e, conseqüentemente, também aumenta a quantidade citoplasmática de chaperonas que tentam consertar essas proteínas.

3. As hsp60 têm uma forma de barril na qual aprisionam a proteína defeituosa e tentam consertá-la. As hsp70 atuam desenovelando e enovelando a proteína, tanto para que ela assuma a conformação certa como para que ela possa passar pelos complexos translocadores de organelas como a mitocôndria.
4. São complexos protéicos existentes no citoplasma que atuam como trituradores de proteínas malformadas. As enzimas proteolíticas dos proteassomas são ativas no pH citoplasmático (7,0).
5. Essas proteínas são marcadas pela ubiquitina, isto é, são ubiquitinadas. Os proteassomas possuem um receptor para ubiquitina, ligando-se assim às proteínas destinadas à destruição.
6. São agregados de proteínas malformadas que não foram degradados pelos proteassomas e se acumulam em células ou tecidos.

Aula 19

1.
 - a) Moléculas pequenas e hidrofóbicas, como O_2 , CO_2 , NO .
 - b) Açúcares, íons e outras moléculas pequenas e hidrofílicas.
 - c) Macromoléculas (proteínas, polissacarídeos) ou microorganismos (bactérias, fungos etc.).
2. Nutrição e defesa do organismo.
3. Principalmente protozoários e células do sistema imune, mas quase todos os tipos celulares podem, a princípio, fagocitar.
4. Na pinocitose são englobadas pequenas porções de fluido extracelular, formando vesículas menores que 150 nm. Na fagocitose são internalizadas partículas maiores e o vacúolo endocítico mede 250 nm ou mais.
5. Moléculas de superfície, como açúcares ou anticorpos aderidos à superfície da célula-alvo.
6. São vacúolos que englobam grande quantidade de fluido extracelular pela projeção de um pseudópodeo para a face dorsal da célula. Além de aquisição de nutrientes, células do sistema imune fazem um patrulhamento por amostragem, detectando possíveis moléculas estranhas.

1. Em ambas, a vesícula endocítica possui o mesmo tamanho, mas na endocitose mediada por receptor há muito mais partículas endocitadas em cada vesícula. Em outras palavras, a eficiência é maior, pois as partículas são concentradas na área de membrana que dará origem à vesícula endocítica.
2. Sob o lado citoplasmático da membrana organiza-se uma rede de moléculas de clatrina. Essas moléculas de clatrina se ligam a proteínas adaptadoras, as adaptinas, que por sua vez se ligam aos complexos receptor-ligante.
3. A molécula de clatrina se parece com uma estrela de 3 pernas e o polímero forma hexágonos e pentágonos, se fechando numa esfera, como uma bola de futebol.
4. Ela é *estrangulada* pela proteína dinamina.
5. O endossoma inicial é formado pela fusão de várias vesículas endocíticas, já sem o revestimento de clatrina, com um compartimento com pH levemente ácido (6,5).
6. Os ligantes se desligam de seus receptores. Estes últimos se destacarão e formarão vesículas de reciclagem, voltando à membrana, onde poderão capturar mais ligantes. Os ligantes prosseguirão para outro compartimento.
7. A presença de uma proteína transmembrana que importa prótons do citoplasma para esse compartimento por transporte ativo.
8. É um compartimento um pouco mais ácido que o endossoma inicial (pH 6,0) para onde são conduzidos os ligantes do endossoma inicial e que recebe enzimas lisossomais recém-sintetizadas.
9. Elas são sintetizadas no retículo e no Golgi, como todas as proteínas de secreção, e contêm um sinal característico: a manose 6-fosfato.
10. Porque a membrana interna dos lisossomas é muito glicosilada, e os lisossomas não possuem a enzima que digere o último açúcar da árvore glicídica, o ácido siálico, impedindo, assim, as outras enzimas de alcançar a membrana do lisossoma.
11. Quando uma mutação faz com que enzimas lisossomais sejam defeituosas (podem não funcionar, podem não ter seqüência de endereçamento correta), os substratos que elas deveriam digerir acabam se acumulando no citoplasma ou no meio extracelular.

12. É quando a célula digere alguns de seus próprias componentes, como mitocôndrias, que estejam “sobrando”. O vacúolo autofágico se forma a partir de membranas do retículo, que envolvem a organela que vai ser degradada, criando um ambiente apropriado à ação das enzimas lisossomais.



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA



Ministério
da Educação

