EDUCAÇÃO A DISTÂNCIA

CITOLOGIA ANIMAL E VEGETAL

Élder Antônio Sousa Paiva
Gleydes Gambogi Parreira
Valéria Ruiz de Souza

EDITORA ufmg

CITOLOGIA ANIMAL E VEGETAL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Ronaldo Tadêu Pena
Vice-Reitora: Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitoria de Graduação

Pró-Reitor: Mauro Braga
Pró-Reitora Adjunta: Carmela Maria Polito Braga
Coordenadora do Centro de Apoio à Educação a Distância:
Maria do Carmo Vila

EDITORA UFMG

Diretor: Wander Melo Miranda
Vice-Diretora: Silvana Cóser

Conselho Editorial

Wander Melo Miranda (presidente)
Carlos Antônio Leite Brandão
Juarez Rocha Guimarães
Maria das Graças Santa Bárbara
Márcio Gomes Soares
Maria Helena Damasceno e Silva Megale
Paulo Sérgio Lacerda Beirão
Silvana Cóser

Élder Antônio Sousa Paiva
Gleydes Gambogi Parreira
Valéria Ruiz de Souza

CITOLOGIA ANIMAL E VEGETAL

Belo Horizonte
Editora UFMG
2009

© 2009, Élder Antônio Sousa Paiva, Gleydes Gambogi Parreira, Valéria Ruiz de Souza
© 2009 , Editora UFMG

P149c Paiva, Élder Antônio Sousa

Citologia animal e vegetal / Élder Antônio Sousa Paiva, Gleydes Gambogi Parreira, Valéria Ruiz de Souza. - Belo Horizonte : Editora UFMG, 2009.

158 p.: il. - (Educação a Distância)

Inclui bibliografia.
ISBN: 978-85-7041-659-9

1. Citologia. I. Parreira, Gleydes Gambogi. II. Souza, Valéria Ruiz de. III. Título. V. Série.

CDD: 576-3
CDU: 574.87

Ficha catalográfica elaborada pela CCQC - Central de Controle de Qualidade da Catalogação da Biblioteca Universitária da UFMG

Este livro recebeu o apoio financeiro da Secretaria de Educação a Distância do MEC.

COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO DE TEXTOS DE BIOLOGIA: Gleydes Gambogi Parreira
COLABORADORAS: Gleide Fernandes de Avelar e Jaqueline Melo Soares
EDITORAÇÃO DE TEXTOS: Maria do Carmo Leite Ribeiro
REVISÃO E NORMALIZAÇÃO: Michel Gannam
REVISÃO DE PROVAS: Márcia Romano
ATUALIZAÇÃO ORTOGRÁFICA: Karen M. Chequer e Warren Marilac
PRODUÇÃO GRÁFICA: Warren Marilac
PROJETO GRÁFICO e CAPA: Eduardo Ferreira
FORMATAÇÃO: Warren Marilac

EDITORA UFMG
Av. Antônio Carlos, 6.627 - Ala direita
da Biblioteca Central - Térreo
Campus Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte - MG
Tel.: + 55 31 3409-4650 - Fax: + 55 31 3409-4768
www.editora.ufmg.br - editora@ufmg.br

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
Av. Antônio Carlos, 6.627 - Reitoria – 6º andar
Campus Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte - MG
Tel.: + 55 31 3409-4054 - Fax: + 55 31 3409-4060
www.ufmg.br - info@prograd.ufmg.br - educacaoadistancia@ufmg.br

Os Cursos de Graduação da UFMG, modalidade a distância, foram concebidos tendo em vista dois princípios fundamentais. O primeiro deles se refere à democratização do acesso à educação superior; o segundo consiste na formação de profissionais de alto nível, comprometidos com o desenvolvimento do país.

A coletânea da qual este volume faz parte visa dar suporte aos estudantes desses cursos. Cada volume está relacionado com um tema, eleito como estruturante na matriz curricular. Ele apresenta os conhecimentos mínimos considerados essenciais no estudo do tema. Isto não significa que o estudante deva se limitar somente ao estudo do volume. Ao contrário, ele é o ponto de partida na busca de um conhecimento mais amplo e aprofundado sobre o assunto. Nessa direção, cada volume apresenta uma bibliografia, com indicação de obras impressas e obras virtuais que deverão ser consultadas à medida que se fizer necessário.

Cada volume da coletânea está dividido em aulas, as quais consistem em unidades de estudo do tema tratado. Os objetivos, apresentados em cada início de aula, indicam as competências e habilidades que o estudante deve adquirir ao término de seu estudo. As aulas podem se constituir em apresentação, reflexões e indagações teóricas, experimentos ou orientações para atividades a serem realizadas pelos estudantes.

Para cada aula ou conjunto de aulas, foi elaborada uma autoavaliação com o objetivo de levar o estudante a avaliar o seu progresso e a desenvolver estratégias de metacognição ao se conscientizar dos diversos aspectos envolvidos em seus processos cognitivos. A autoavaliação auxiliará o estudante a tornar-se mais autônomo, responsável, crítico, capaz de desenvolver sua independência intelectual. Caso ela mostre que as competências e habilidades indicadas nos objetivos não foram alcançadas, ele deverá estudar com mais afinco e atenção o tema proposto, reorientar seus estudos ou buscar ajuda dos tutores, professores especialistas e colegas.

Agradecemos a todas as instituições que colaboraram na produção desta coletânea. Em particular, agradecemos às pessoas (autores, coordenador da produção gráfica, coordenadores de redação, desenhistas, diagramadores, revisores) que dedicaram seu tempo e esforço na preparação desta obra que, temos certeza, em muito contribuirá para a educação brasileira.

Maria do Carmo Vila
Coordenadora do Centro de Apoio à Educação a Distância
UFMG

Sumário

Apresentação 09

AULA 1 A célula animal e vegetal 13

AULA 2 Métodos de estudo 23

AULA 3 A membrana plasmática 39

AULA 4 A formação da parede celular e a citocinese 51

AULA 5 Citoesqueleto 59

AULA 6 Especializações da membrana plasmática e junções 71

AULA 7 Mitocôndria: transformação e armazenamento de energia 85

AULA 8 Plastídios 95

AULA 9 Núcleo celular 101

AULA 10 Síntese e degradação celular 113

AULA 11 O sistema de endomembranas I: retículo endoplasmático rugoso, retículo endoplasmático liso e complexo de Golgi 123

AULA 12 O sistema de endomembranas II: lisossomos, peroxissomos, vacúolos e a via endocítica 133

AULA 13 A sinalização celular 141

AULA 14 A diferenciação celular 149

BIBLIOGRAFIA 157

Apresentação

Ao longo deste curso, você vem percorrendo um caminho de observação e estudo da diversidade biológica, além de estudar as relações ecológicas entre os seres vivos e componentes abióticos. Como você deve ter visto, esta biodiversidade é permeada por correlações evolutivas e filogenéticas. Chegou o momento de compreender a biologia fundamental das células dos metazoários e dos vegetais multicelulares, que, ao interagirem entre si e com o seu meio, se especializam e compõem os tecidos básicos, os quais formam os órgãos e sistemas. Para isso, precisaremos utilizar ferramentas de observação microscópicas que nos permitam visualizar as organelas, as especializações das células e sua posição e relação com os demais componentes dos tecidos. A partir dessa observação e do estudo dos conteúdos teóricos, você deverá correlacionar os aspectos morfológicos das células aos seus aspectos funcionais.

OBJETIVO GERAL

Pretende-se promover a compreensão da organização funcional das células animais e vegetais, das interações entre suas organelas e do processo de diferenciação e divisão celular.

COMPETÊNCIAS E HABILIDADES DESEJADAS

Por meio das atividades propostas nesta disciplina, você deverá ser capaz de manusear corretamente o microscópio de luz e identificar algumas células e tecidos. Além disso, deverá saber interpretar fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica e identificar as organelas e demais componentes celulares.

Ser capaz de identificar as principais organelas celulares, saber suas funções e compreender a sua distribuição nas células dos principais tipos de tecidos.

É importante que você domine os conceitos de ciclo celular, compreenda sua regulação e os processos de diferenciação celular.

Ao estudar os sistemas funcionais dos animais e vegetais, se apoiará nos conhecimentos e habilidades desenvolvidas nesta disciplina.

TEMAS E ORGANIZAÇÃO DOS ESTUDOS TEÓRICOS E PRÁTICOS

Como estudar citologia animal e vegetal? Primeiro, você precisa aguçar sua percepção de tamanho dos objetos. Observe a ponta de um dos seus dedos. Ela deve ter entre 1 e 2 centímetros de comprimento, não é? Agora olhe suas impressões digitais. Você consegue distinguir as linhas a olho nu? Qual a distância aproximada entre elas? Isso, menos de 1 milímetro. Cada uma dessas depressões e elevações é revestida por um tecido epitelial com a profundidade de mais ou menos 10 camadas de células vivas, cada uma medindo cerca de 0,020μm, ou seja, 20μm (vinte milésimos do milímetro). Assim, no espaço entre uma linha e outra você tem cerca de 500 células epiteliais. Para observá-las, é preciso usar um microscópio de luz. Mas, para ir além e observar os detalhes das organelas celulares, ou seja, as mitocôndrias, cloroplastos, ribossomos , é preciso usar um microscópio eletrônico. Portanto, você deverá desenvolver tanto habilidades cognitivas relacionadas ao conteúdo da disciplina e habilidades manuais para a correta utilização do microscópio disponível no laboratório de biologia quanto habilidades espaciais para compreender os cortes histológicos dos tecidos e as fotomicrografias obtidas por meio de microscópios eletrônicos. Deverá usar, de maneira complementar e integrada, os recursos didáticos disponíveis para esta disciplina.

RECURSOS DIDÁTICOS TEÓRICOS E PRÁTICOS

Este fascículo não tem a pretensão de substituir os livros didáticos recomendados na Bibliografia da disciplina, ou, especificamente, nos capítulos individuais. Ele irá orientá-lo para o estudo dos aspectos mais relevantes de cada aula, ressaltando conceitos e habilidades principais para o aprofundamento do tema a ser realizado pelo seu estudo teórico e prático. A cada aula proposta, você deverá ler o conteúdo deste fascículo, estudar os capítulos dos livros sugeridos e, então, fazer as atividades complementares propostas. Depois dessas atividades, você deve responder às questões de autoavaliação para perceber o sucesso dos seus estudos. Procure sempre conversar com seus colegas e tirar suas dúvidas com os tutores. Para os estudos práticos, observe as figuras dos atlas recomendados, as fotomicrografias e lâminas disponíveis no laboratório.

Nos encontros presenciais com seus tutores e colegas nos centros de apoio dos polos, você deverá se programar para cumprir as tarefas práticas das diferentes disciplinas que estiver cursando. O coordenador do polo e seus tutores irão orientá-lo para isso. Aqui, neste fascículo, você terá a orientação sobre o material a ser estudado a cada etapa do estudo da citologia.

PARA IR ALÉM

Para ir além, procure pesquisar os temas de seu maior interesse. Procure sempre imaginar e criar novos recursos para você utilizar nas suas próprias aulas. Como falar de biologia celular para um adolescente de 12 anos? Como ensinar biologia celular para deficientes visuais? O que fazer quando não se tem um microscópio disponível? Pense nos filmes documentários que você já assistiu pela TV, nas revistas e nas pesquisas na Internet. Lembre-se que a seleção da informação correta é fundamental, mas a forma de apresentá-la também. Assim, tenha como base as publicações científicas em livros, artigos em periódicos reconhecidos e use sua criatividade. A área de biologia celular é uma das que mais novidades têm a cada ano de pesquisas. Mantenha-se atualizado!

Valéria Ruiz de Souza

AULA 1

A célula animal e vegetal

Valéria Ruiz de Souza
Élder Antônio Sousa e Paiva

OBJETIVOS

Nesta aula pretendemos apresentar os conceitos gerais da biologia celular dos eucariontes. Você verá a organização básica da célula eucarionte animal e vegetal e um pouco da sua relação com micro-organismos não-eucariontes. É de fundamental importância que você compreenda a relação entre a estrutura e a organização da célula, e a reconheça como uma unidade autopoiética, isto é, que produz a si mesma.

Além disso, é preciso entender a célula como uma estrutura dinâmica e procurar compreender como a interação entre células e seu meio possibilitou a multicelularidade e a diferenciação celular nos organismos mais complexos.

A ORIGEM DAS CÉLULAS

Há cerca de 3,5 bilhões de anos, a formação de moléculas capazes de servir de molde, com capacidade enzimática para efetuar cópias fiéis de si mesmas, possibilitou a origem dos organismos. O ácido ribonucleico (ARN ou RNA) é uma delas. Mas o ácido desoxirribonucleico (ADN ou DNA) possui uma estrutura mais estável, em dupla fita, capaz de servir de molde para sua duplicação, porém, sem capacidade enzimática. A função enzimática necessária para duplicação, transcrição e reparo, é exercida por proteínas.

A vida e a reprodução dependem da manutenção desses processos e da disponibilidade de energia e dos componentes necessários para isso. Em condições ambientais variáveis, a manutenção de microambientes relativamente constantes para permitir esses processos só foi possível através de membranas biológicas. As membranas têm composição fosfolipídica e possuem proteínas associadas, cujas particularidades irão determinar o transporte seletivo de materiais e outros processos

bioquímicos. Os organismos capazes de gerar energia em forma química para o desempenho de suas funções são chamados autotróficos, dentre eles destacam-se os micro-organismos fotossintetizantes e as plantas superiores, mas as reações de oxidação e redução podem ser realizadas por micro-organismos, a partir de inúmeros substratos como o metano e a amônia.

Nas bactérias, as proteínas que compõem o complexo da cadeia respiratória e os fotossistemas para a fotossíntese estão associados à membrana celular. Cloroplastos e mitocôndrias são organelas presentes em células eucariontes, provavelmente derivadas dessas bactérias. Mas a divergência entre bactérias e eucariontes deve ter ocorrido após serem estabelecidos os mecanismos de replicação e transcrição do DNA, a tradução, o sistema de códons e o metabolismo energético e biossintético. Na verdade, a distinção entre eucariontes e procariontes foi recentemente colocada em dúvida devido às similaridades identificadas entre as Archeobactérias e os Eucariontes. Veja na Figura 1 uma das propostas de subdivisões dos seres vivos aceitas até recentemente. Um esforço coletivo da comunidade científica atual é a construção de "uma árvore da vida" que contemple as novas relações entre os Domínios Archaea, Bacteria e Eukaria. (Para saber mais, consulte o site: http://tolweb.org/tree/phylogeny.html).

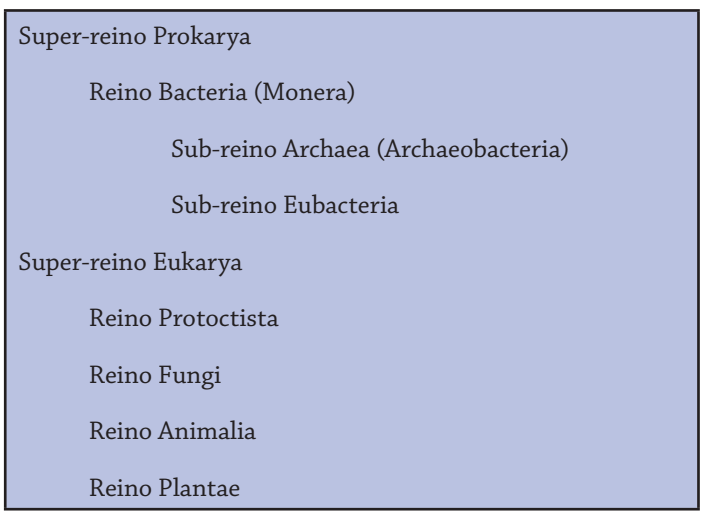


Figura 1 – Os cinco reinos propostos por Lynn Margulis e Karlene V. Schwartz

É provável que o envoltório nuclear dos eucariontes tenha se originado das Archaea, e não das bactérias, enquanto as mitocôndrias se originaram de bactérias.

Bactérias e Archaea possuem todos os seus componentes no citoplasma, delimitado por uma única membrana plasmática. Uma parede celular também pode estar presente. No meio ambiente, a interação entre os diferentes tipos de bactérias, Archaea e eucariontes é fundamental para a formação de ecossistemas, com nichos delimitados, embora todos

interdependentes. Esse aspecto ecológico dos organismos unicelulares será explorado nas demais disciplinas. Veja o quadro comparativo entre Bactéria, Archaea e Eukarya no Quadro 1.

QUADRO 1
Quadro comparativo de alguns aspectos de bactérias – Archaea e Eucariontes

Características	Bactéria	Archaea	Eukarya
Núcleo	ausente	ausente	presente
Cromossomos	1 circular	1 circular	>1 lineares
Parede celular	com ácido murânico	sem ácido murânico	sem ácido murânico
Plasmídeos	frequentes	frequentes	raros
Espécies metanogênicas	não	sim	não
Espécies redutoras de SO a H_2S	sim	sim	não
Clorofilas fotossintéticas	sim	não	sim

Para os eucariontes, a compartimentalização de atividades celulares em organelas envolvidas por membranas fosfolipídicas foi importante para a manutenção de regiões com composição e propriedades diferentes dentro da mesma célula. Mas do ponto de vista fisiológico, biossintético e reprodutivo, a célula é uma **unidade funcional**, mantida pela **relação** entre seus componentes. Nesse sentido, a célula pode ser concebida como uma unidade autopoiética, como definem Humberto Maturana e Francisco Varela. A célula é a unidade fundamental da vida e seu estudo revela que a vida é um **processo** de automanutenção, no qual a estrutura pode ser modificada, componentes podem ser substituídos, desde que sua organização seja mantida. Uma célula só sabe fazer a si mesma, e acoplada estruturalmente ao seu meio pode sobreviver, migrar, se dividir, se diferenciar ou morrer.

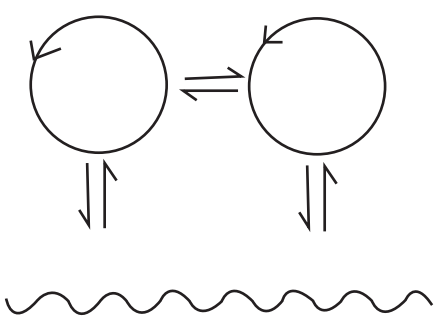


Figura 2 – Esquema da forma pela qual unidades autopoiéticas como as células podem interagir entre si e com o meio no qual estão, segundo Maturana e Varela

Apesar da importância do genoma para a produção de proteínas estruturais e funcionais, vários componentes celulares são herdados a partir do citoplasma do ovócito, por exemplo, os plastídios, as mitocôndrias e a maquinaria enzimática para a transcrição e tradução. A organização das membranas também é herdada de forma não genética. Além disso, sabemos hoje que as modificações pós-traducionais das proteínas são de fundamental importância para que possam exercer suas funções e obedecer a uma dinâmica de degradação. Alterações desses processos podem levar à síntese de enzimas não funcionais ou ao acúmulo de proteínas de forma inadequada, como na doença de Alzheimer.

AS ATIVIDADES BÁSICAS DE MANUTENÇÃO DAS CÉLULAS EUCARIONTES

Os organismos unicelulares dependem, basicamente, da disponibilidade de nutrientes de seu meio para se multiplicarem. Nos organismos multicelulares, a progressiva diferenciação celular e a formação de microambientes internos distintos permitiram a especialização de diferentes tipos de células e tecidos, que juntos formam os órgãos e sistemas fisiológicos. Todos eles participam reciprocamente da constituição e dinâmica do organismo como um todo. O ritmo de divisão celular e o tempo de permanência das células na intérfase diferem entre tipos celulares diversos. A capacidade de regeneração dos tecidos também. Além disso, em fases diferentes da vida do organismo, as taxas de regeneração, de diferenciação celular e de metabolismo celular também variam. Portanto, ao se estudar a biologia celular é necessário que o pesquisador se situe ao longo da vida do indivíduo.

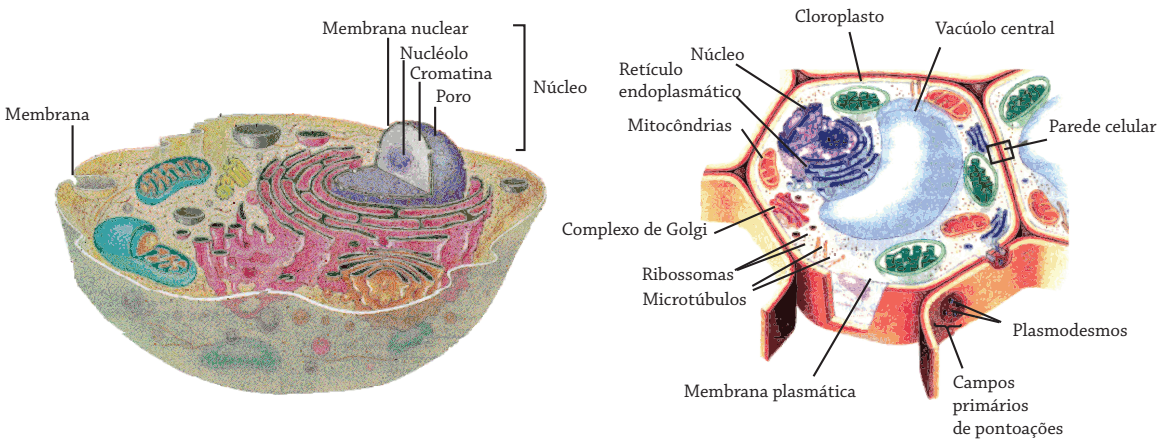


Figura 3 – A célula animal e a célula vegetal
Fonte: <fai.unne.edu.ar/biologia/images/celula.gif>.

AS FONTES DE ENERGIA E DE NUTRIENTES: PROCESSOS CONSERVADOS NA EVOLUÇÃO

Os organismos heterotróficos obtêm do meio que os circundam a matéria-prima para sua energia e muitas substâncias ditas essenciais. As células eucarióticas podem absorver ativamente nutrientes e substâncias essenciais através de receptores específicos em suas membranas ou pelo processo de endocitose. Essas substâncias são processadas dentro das células por meio de complexos enzimáticos no citoplasma ou no compartimento endossômico, ou seja, dentro de organelas delimitadas por membranas. Os compostos fundamentais, como aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, íons, nucleotídeos, podem ser utilizados para a síntese de novos compostos mais complexos. A digestão de moléculas complexas gera energia na forma de ATP ou calor, necessária tanto para a biossíntese como para as reações de degradação. Portanto, o equilíbrio energético das células é de fundamental importância para seu funcionamento. Células diferentes armazenam e consomem energia de materiais provenientes de fora ou de dentro delas, mas os processos bioquímicos relacionados ao metabolismo e ao catabolismo são altamente conservados ao longo da evolução.

A DIVISÃO DE TRABALHO DENTRO DA CÉLULA

Abordaremos agora algumas particularidades das células eucariontes na intérfase, fase na qual a célula expressa todo seu potencial biossintético. As células eucariontes possuem um núcleo que contém o DNA idêntico para todas as células, exceto as células germinativas e os linfócitos. As hemácias humanas não possuem núcleo, mas as de outros vertebrados, como as aves, sim. As hemácias são células terminais de uma linhagem hematopoiética que produziu e acumulou suas proteínas ao longo de sua diferenciação, quando ainda tinha um núcleo. Essas proteínas foram sintetizadas no citoplasma, em organelas dinâmicas formadas por ribossomos e RNA mensageiros, chamadas de polirribossomos. Em células que secretam proteínas, elas são produzidas no retículo endoplasmático rugoso (RER), que é uma continuidade do envoltório nuclear. Então, os polirribossomos são aderidos e os peptídeos sintetizados para dentro da cisterna do RER. Em comunicação com o complexo de Golgi, através de vesículas, essas proteínas passam por modificações pós-traducionais, como a adição de açúcares, radicais sulfato ou fosfato. Isso é possível no Golgi, pois as enzimas que participam dessas reações estão ali localizadas. Da face do complexo de Golgi mais próxima à membrana plasmática brotam vesículas com essas proteínas, "endereçadas" através de sequências de aminoácidos para a membrana plasmática. Dessa forma, as vesículas se fundem à membrana e liberam as proteínas a serem secretadas.

Para que uma célula interfásica se mantenha do mesmo tamanho, com a mesma superfície e volume, é preciso haver um equilíbrio entre a síntese e a degradação. Uma célula secretora, como a descrita anteriormente, teria sua superfície ampliada a cada evento de exocitose se a membrana não fosse reciclada por um processo oposto, como o de endocitose. Na célula vegetal o vacúolo central regula o tamanho da célula por expansão ou contração, mas após a diferenciação celular, o tamanho e o formato da célula, geralmente, não se alteram mais, pois a parede celular é capaz de manter o seu formato.

A forma de uma célula, a distribuição das suas organelas e a movimentação de vesículas estão relacionadas com o seu citoesqueleto. O citoesqueleto das células vegetais e animais é composto por filamentos proteicos, formados pela polimerização de proteínas globulares. Seus componentes estão distribuídos no citoplasma de acordo com o tipo e a fase do ciclo celular da célula. Na célula interfásica, ele é responsável pelas alterações de forma e da distribuição de organelas, desencadeadas por interações entre a célula e seu meio e entre células diferentes. É também responsável pela sustentação e resistência da célula. Portanto, a organização do citoesqueleto depende de interações da célula com seu meio, com a matriz extracelular e com outras células. Já na célula em divisão, o citoesqueleto participa fundamentalmente do fuso mitótico, do processo de distribuição das organelas entre as células-filhas, da citocinese, que é a separação delas, e da reestruturação do envoltório nuclear.

Portanto, na célula eucarionte as diferentes organelas participam da orquestração das atividades celulares por meio de suas ações específicas, o que resulta, ao final, na manutenção da organização celular. Células com funções diferentes apresentam a predominância de organelas relacionadas a essa função. Assim, uma célula secretora de proteínas apresentará um RER mais desenvolvido que uma célula que sintetiza hormônios derivados de lipídios, função possibilitada pela composição e organização do retículo endoplasmático liso (REL). As células vegetais podem armazenar compostos distintos em seus vacúolos. Dependendo da natureza dessa substância, as organelas responsáveis por sua síntese predominarão na célula.

A estrutura morfológica e as funções das organelas serão abordadas com mais detalhes em aulas posteriores.

COMO SE MANTER: SÍNTESE E DEGRADAÇÃO – OS CAMINHOS DA RECICLAGEM

O metabolismo celular envolve uma relação recíproca entre o catabolismo e a biossíntese, ou anabolismo celular. O catabolismo gera energia e disponibiliza componentes básicos que podem ser aproveitados pela célula. As duas vias principais de degradação proteica que operam em células de mamíferos são

a proteossômica, da qual participam proteases citoplasmáticas, e aquela que ocorre dentro de compartimentos membranares, dependentes dos lisossomos. A ubiquitina, por exemplo, uma proteína de 76 aminoácidos, presente em todas as células, é fundamental para a degradação proteica. Ela se liga a proteínas excedentes ou deterioradas, que são direcionadas para a digestão em proteossomos. Esse tipo de degradação proteica é fundamental na passagem da metáfase para a anáfase na mitose e na degradação das ciclinas, proteínas reguladoras das fases G1 e G2 da intérfase. Os lisossomos, por sua vez, contêm enzimas que são ativadas quando eles se fundem com vesículas provenientes da endocitose ou com vacúolos autofágicos que degradam as organelas celulares.

A síntese de fosfolípides ocorre associada à membrana do retículo endoplasmático liso. Essa síntese permite o crescimento celular após a mitose, para que a relação entre superfície e volume celular possa ser adequada. Nas células em intérfase, maduras ou já diferenciadas, existe um trânsito de membranas entre as organelas, principalmente no sistema de endomembranas, que será abordado na aula dedicada a esse tema.

A INTERAÇÃO ENTRE AS CÉLULAS E A CONSTRUÇÃO DA MATRIZ INTERCELULAR: O CAMINHO PARA A MULTICELULARIDADE

Na célula animal

Para o estabelecimento dos metazoários, um dos eventos mais importantes foi a organização de folhas epiteliais, que separam compartimentos externos e internos. A possibilidade de **adesão** e **comunicação** entre as células por meio de junções, e a polarização celular em regiões basal e apical parecem ser os principais requisitos para a multicelularidade. Os epitélios são tecidos especializados que vedam espaços e selecionam a passagem de substâncias entre diferentes compartimentos. Além disso, eles participam da proteção dos organismos contra forças mecânicas, da desidratação, de alterações da microbiota, de ações enzimáticas, de extremos de pH e de agentes patogênicos. Nas células animais, a formação de um espaço intercelular, a **matriz extracelular**, possibilitou a manutenção de um meio mais constante para o metabolismo e para trocas e interações entre as células. A criação desse meio possibilitou também a diferenciação celular, sendo as atividades de manutenção do organismo assumidas por tipos celulares mais especializados.

Na célula vegetal

Ao comparar células vegetais e animais você notará que uma das principais diferenças é a presença, nas primeiras, da parede celular. Portanto, o que está envolto por essa parede é análogo à célula animal e

recebe a denominação de protoplasto. Em outras palavras, protoplasto é a fração da célula vegetal, após a remoção da parede celular.

Nos vegetais (lembrando que a parede celular é parte da célula), a comunicação entre células não pode ser feita pelo simples contato entre membrana plasmática de células adjacentes. Nesses organismos a comunicação entre células é intensa e a lamela mediana (formada por pectinas) atua como cimento intercelular. Já o contato entre os protoplastos é feito por meio dos plasmodesmos (ver Aula 4).

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Uma das grandes questões da humanidade é a explicação do que é a vida. Uma das propostas mais atraentes foi feita pelos neurobiólogos chilenos Humberto Maturana e Francisco Varela. Para mais informações, leia: MATURANA, H. *Metadesenho*. Disponível em: <http://www.inteco.cl/articulos/006/doc_ing1.htm>.

O livro original com o conceito de autopoiese é: MATURANA, H.; VARELA, F. *A árvore do conhecimento*: as bases biológicas do entendimento humano. São Paulo: Palas Athena, 2001.

GERHART, J.; KIRSHNER, M. *Cells embryos and evolution*: Toward a cellular and developmental understanding of phenotypic variation and evolutionary adaptability. [S.l.]: Blackwell Science, 1997. Trata da abordagem celular do desenvolvimento na variação fenotípica e na adaptabilidade evolutiva.

AUTOAVALIAÇÃO

- Compare a organização básica de uma célula animal e vegetal.

AULA 2

Métodos de estudo

Gleydes Gambogi Parreira
Jaqueline Melo Soares

Objetivos
- Conhecer o processo de obtenção de material para estudo no âmbito da microscopia de luz.
- Conhecer o processo de obtenção de material para estudo no âmbito da microscopia eletrônica de transmissão.

INTRODUÇÃO

Conceitualmente, a célula é a unidade morfofuncional dos seres vivos, geralmente invisível ao olhar humano, que tem a capacidade de exercer diferentes funções e de interagir com outras células, similares ou não, para compor os tecidos.

Embora a observação da maioria dos tipos celulares, notadamente células animais, seja possível apenas se levada aos microscópios de luz (óptico) ou eletrônico, algumas células vegetais podem ser vistas a olho nu, como alguns tricomas (pelos), por exemplo. Para que possamos observar células ao microscópio, o tecido deve passar por uma série detalhada de processos que permitirão preservar e dar destaque às diferentes organelas e estruturas celulares. Nesse sentido é que, antes de iniciarmos a nossa "viagem" à célula, propomos expor nesta aula um pouco sobre os métodos os quais nos garantem a preservação e preparação das células, objeto da nossa observação.

Quanto maior o nível de detalhes que pretendemos observar, maiores serão os cuidados no preparo das amostras. Para a observação da maioria das organelas, devemos recorrer ao microscópio eletrônico de transmissão, o que exige um lento e cuidadoso processamento da amostra a ser estudada. Entretanto, ao microscópio de luz, muitas observações podem ser feitas com o mínimo de processamento da amostra. Vocês podem observar células da mucosa bucal de um modo

bastante simples: basta uma leve raspagem da mucosa e montagem do material colhido em lâmina para microscopia. A propósito, foi empregando uma fina fatia de cortiça que Robert Hooke observou e descreveu células pela primeira vez (ele observou paredes celulares sem protoplasto, pois as células que compõem a cortiça estão mortas na maturidade).

Vocês já se deram conta de que a célula do fígado (hepatócito) de um camundongo guarda similaridades com as do nosso, os seres humanos? E tem mais! Essas células se organizam em fileiras, margeadas por vasos sanguíneos de calibre muito delgado (capilares sinusoides), e esse arranjo é comum tanto ao nosso fígado quanto ao dos camundongos.

Outra questão: **Como é que os pesquisadores conseguiram chegar a todas essas conclusões?** Tudo isso foi possível graças ao desenvolvimento da ciência, conhecida como Biologia Celular, e de equipamentos que permitiram observar a diminuta estrutura da célula, como os microscópios, sobre o qual faremos um breve histórico no próximo tópico, pelos quais os pesquisadores conseguiram acumular o grande volume de conhecimento a respeito da estrutura e funções celulares que dispomos hoje.

HISTÓRICO

A invenção do microscópio de luz, ao final do século XVI, permitiu a observação da célula e, desde então, tudo o que conhecemos dela foi graças a esse equipamento. Antoine van Leeuwenhoek (1632-1732) e Robert Hooke (1635-1703) foram os pioneiros, tendo este iniciado os estudos a partir da cortiça, assim como citado anteriormente. Antonie van Leeuwenhoek estudou o que denominou de “animalcules”, imagens fantásticas para a época, que se tratava de bactérias e protozoários. A partir de então, esses aparelhos tiveram enorme desenvolvimento, passando pela criação das lentes apocromáticas, em 1886, por Ernest Abbe e Carl Zeiss, que permitiram minimizar bastante os problemas de formação de imagens com aberrações ópticas e distorções (aberrações cromáticas). Cabe ressaltar, em 1839, os nomes dos alemães Mathias Jacob Schleiden e Theodor Schwann, cujas pesquisas levaram ao reconhecimento de aspectos semelhantes entre tipos celulares, os quais propuseram que todos os organismos vivos são constituídos de células.

Não vamos nos ater aos detalhamentos da história da microscopia. Vale apenas ressaltar que a evolução dos microscópios de luz chegou aos requintes da possibilidade de acoplamento de câmeras fotográficas e sistema de digitalização de imagens, extremamente eficientes. Não podemos também nos esquecer da evolução dos sistemas de microscopia eletrônica de transmissão, de varredura, de fluorescência etc., que, satisfatoriamente, pode ser conhecida nas páginas de acesso à Internet.

ESTRUTURA DOS MICROSCÓPIOS: DESCRIÇÃO BÁSICA

Em linhas gerais, a observação de células e de tecidos por meio desses aparelhos é possível devido a um somatório de ações desempenhadas por lentes de vidro, que as reproduzem para o olho humano. Isso proporciona uma imagem aumentada e detalhada das células, dos tecidos e dos órgãos, facilitando seu estudo. O conjunto de lentes é formado pelas **objetivas** e **oculares**. A **objetiva**, a primeira lente, a que está mais próxima do objeto, daí seu nome, capta a luz filtrada pelo condensador e projeta uma imagem real, invertida e aumentada da estrutura. A lente ocular presta-se a aumentar a imagem projetada pela objetiva, a qual será captada pelo olho do observador, acoplado ao visor. A parte mecânica do microscópio é composta da base, braço, canhão (que sustenta as objetivas), platina, *charriot*, parafusos macro e micrométrico e o parafuso de regulagem do condensador. A **mesa** ou **platina** é o suporte no qual é colocada a lâmina de vidro, e contém o espécime que se deseja observar, que, aliás, pode se movimentar graças aos *charriots*. Esses são pequenos parafusos localizados junto à platina, que possibilitam seu deslocamento bidirecional. No entanto, precisamos nos lembrar que as células e os tecidos não estão dispostos em um único plano, mas em estratos, o que nos faz misturar a nitidez das imagens. Esse problema é facilmente resolvido com a ajuda dos parafusos macro e micrométricos (Figura 1), que auxiliam ao observador encontrar o foco ideal à sua visão para a estrutura desejada.

É importante lembrar que, dependendo da riqueza de detalhes que queremos conhecer das células e/ou tecidos, devemos lançar mão de diferentes microscópios, os quais nos possibilitam essas informações. No entanto, esses aparelhos possuem características próprias, que serão discutidas oportunamente.

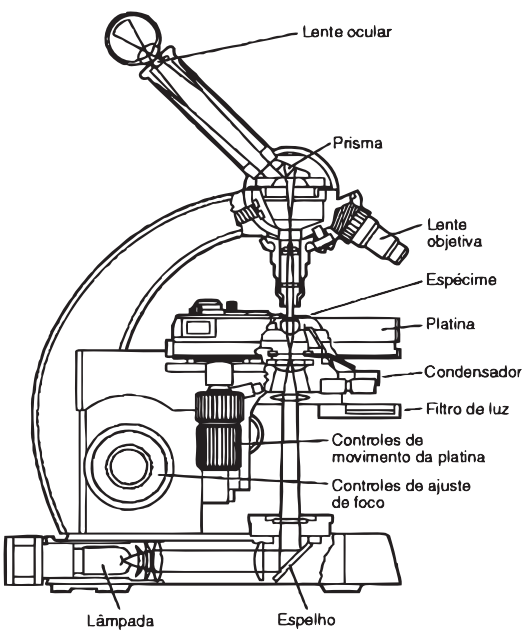


Figura 1 – Desenho esquemático do microscópio de luz

No próximo tópico, vamos discutir as etapas que devemos seguir para a obtenção dos espécimes, cujas estruturas queremos conhecer mais detalhadamente. **Por que essa preocupação**? Simplesmente porque, para se ter uma visão macroscópica, basta "vasculhar" sua estrutura externa, como vocês já fizeram na disciplina de Anatomia Humana. No entanto, se quisermos conhecer a célula e/ou tecido, ou seja, termos uma visão microscópica, devemos obedecer a uma série obrigatória de etapas do processamento do material para análise microscópica, que serão apresentadas a seguir. São etapas que, além de serem sequenciais, guardam uma dependência entre elas, e isso requer bastante cuidado.

PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA ANÁLISE MICROSCÓPICA

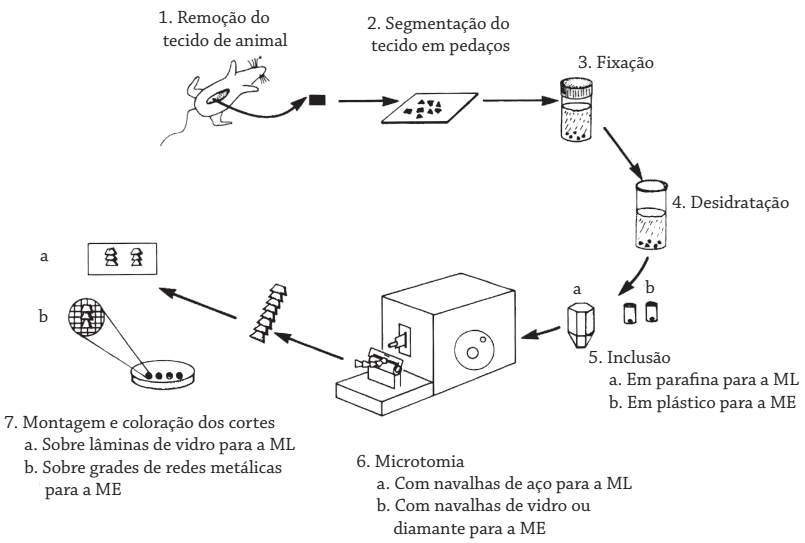


Figura 2 – Resumo das etapas do processamento de material para estudo à microscopia de luz e eletrônica de transmissão

Seria muita pretensão nossa apresentar aqui todas as nuances de um processamento de material, mesmo porque é um conjunto de situações caracteristicamente experimentais. Assim, antes de prosseguirmos, analisaremos as etapas mostradas na figura anterior (Figura 2).

A nossa intenção é que vocês observem todas as etapas para entender "onde" queremos chegar, ou seja, na obtenção de **uma lâmina histológica (a)** ou de uma **tela de cobre (b**), contendo fragmentos do órgão, que serão observados ao microscópio de luz (ML) e ao microscópio eletrônico de transmissão (MET), respectivamente.

Coleta de material

Consiste na retirada de fragmentos dos órgãos (Figura 3) do animal, devidamente anestesiado, conforme exigências do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA), ou de uma planta.

Uma vez coletado, o fragmento deve ser imediatamente imerso em um ambiente, seja ele físico ou químico, que tem o objetivo de preservá-lo e prepará-lo para as próximas etapas.

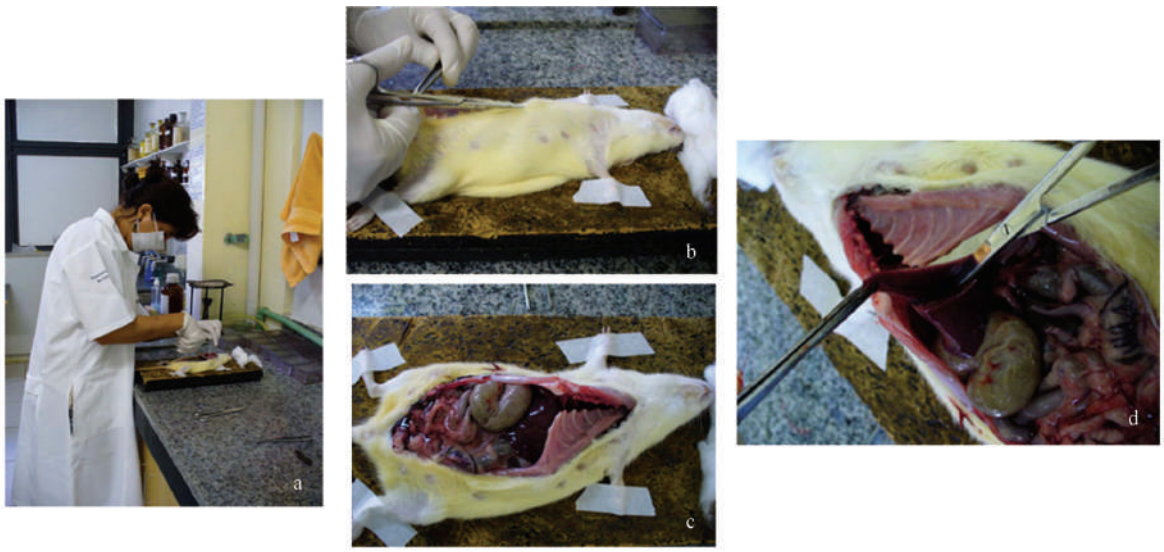


Figura 3 – Procedimento de coleta do material. a) higiene na coleta com uso de avental, luvas e máscara; b) manutenção do animal anestesiado e incisão na porção ventral do animal; c) órgãos a serem coletados expostos; d) retirada de fragmento de órgãos, no exemplo, do fígado.

Fixação

Conceitualmente, a fixação tem por finalidade assegurar a preservação das estruturas morfológicas das células e dos tecidos, de tal forma que elas se apresentem como se estivessem no animal *in vivo*. Para isso, utilizamos os fixadores físicos (congelamento e calor) ou os líquidos químicos. Os fixadores físicos, apesar de pouco duráveis e de baixa qualidade, são muito úteis, por exemplo, durante processos cirúrgicos, ou seja, em situações que necessitamos de um diagnóstico rápido.

Já os fixadores químicos, mais comumente usados, são eficientes na preservação dos tecidos por período longo de tempo. Podemos citar uma centena de fixadores químicos, que podem ser usados isoladamente, fixadores simples (álcool, formol, ácido acético etc.), ou na forma de "misturas fixadoras" (Bouin, Helly, Zenker etc.). No entanto, as misturas são mais aconselháveis, já que são associações de diferentes fixadores simples, cujas qualidades individuais são somadas e eventuais defeitos, minimizados.



Figura 4 – Imersão dos fragmentos em líquido fixador (exemplo: Bouin)

Cabe aqui discutirmos sobre como agem os fixadores. Os fragmentos são mergulhados no frasco, contendo o líquido fixador (Figura 4), que, em proporções adequadas ao tamanho do fragmento, iniciam sua penetração a partir da superfície externa do mesmo, até atingir suas porções internas. Em outras palavras, o líquido "invade" os tecidos, tornando-os preservados. Dentre outros fatores, é muito importante a adequação do fixador ao material que se pretende observar e à sua qualidade. Isso porque a má fixação leva à deformação do tecido e, portanto, não representará a estrutura morfológica *in vivo* do mesmo.

Além do método de imersão discutido, a fixação pode ser feita por perfusão, ou seja, a injeção do líquido fixador na corrente sanguínea através do coração. De modo geral, essa modalidade é bem mais eficiente, já que a circulação atinge os tecidos mais profundamente. No entanto, é um método mais caro e não aplicável às plantas, obviamente. É bom lembrar que essa etapa e as que se seguem são experimentais, ou seja, trabalha-se com erros e acertos, sempre.

Ao estudarmos vegetais, muitas informações a respeito da organização estrutural de células e tecidos podem ser obtidas em material fresco, ainda vivo. Basta, para isso, seccionar o órgão com o auxílio de uma lâmina de barbear, obtendo cortes delgados, os quais podem ser montados em água, entre lâmina e lamínula, e levados ao microscópio.

Vamos para a próxima etapa.

Desidratação

Esta etapa é, no mínimo, curiosa, pois o nosso objetivo é obter cortes extremamente delgados, que serão aderidos em lâminas de vidro (Figura 7a), ou telas de cobre (Figura 7b).

A expressão **cortes delgados**, na microscopia, significa "fatias", cuja espessura é lida em **micrômetros** (μm), que corresponde à **milésima**

parte do milímetro. Na figura a seguir, segue um tabela comparativa das espessuras que devemos considerar para observarmos as estruturas ao nível da microscopia. Vejam como é bem interessante o limite de observação que temos entre as estruturas!

Microscopia: unidades e aumentos

Unidade de medida	Símbolo	Valor
micrômetro	µm	0,001mm
namômetro	nm	0,001nm

Ocular	Objetiva	Aumento
10x	10x (pequeno aumento)	100x
10x	40x (grande aumento, a seco)	400x
10x	100x (imersão em óleo)	1.000x

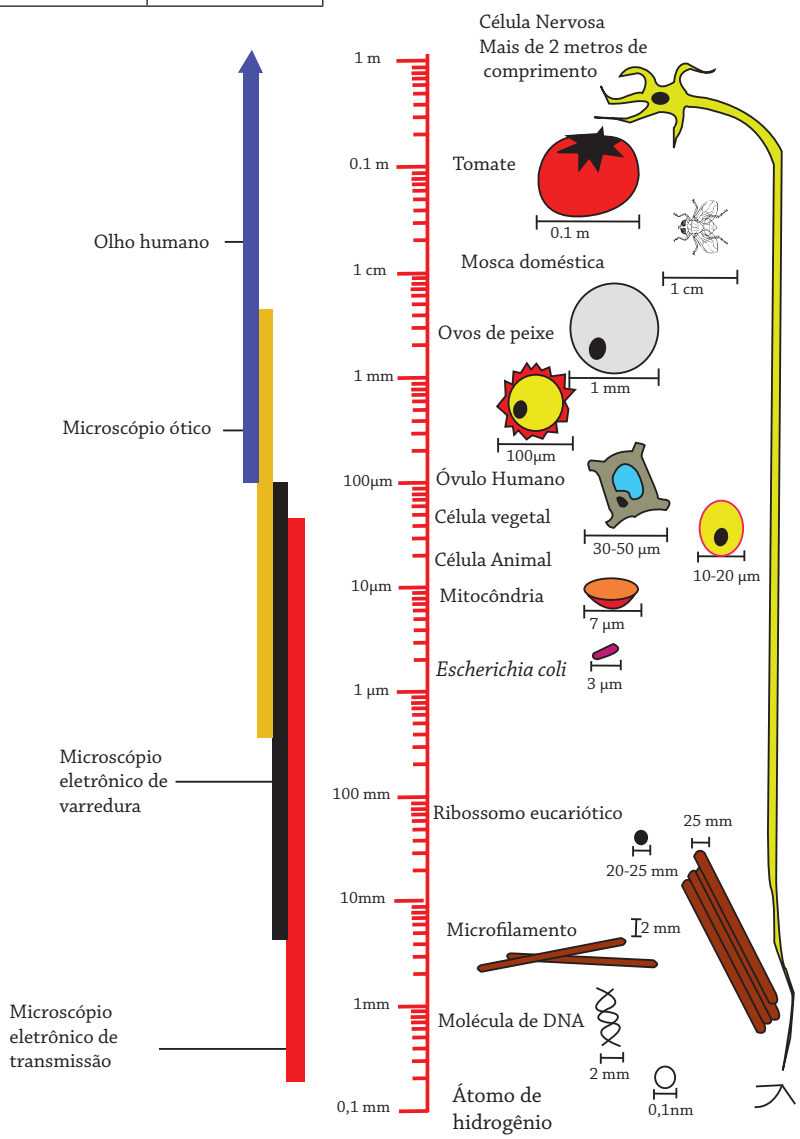


Figura 5 – Esquema das comparações entre os limites de observação visual e microscópico

Os cortes para microscopia de luz têm uma espessura média de 3 a 7µm, ou seja, são muito delgados. Mas por que o assunto *espessura* está sendo colocado aqui, no item de desidratação? É porque, para conseguirmos fatias tão delgadas, é necessário que tenhamos o fragmento embebido, *incluído*, em um ambiente firme, que nos permita "fatiá-lo" com precisão. Esse ambiente firme é conseguido por meio do enrijecimento do fragmento, com o uso de substâncias endurecedoras, por exemplo, a parafina histológica ou as resinas plásticas, substâncias inclusoras, estas absolutamente incompatíveis com água. Convidamos vocês, agora, a um raciocínio importante: se a água constitui, sabidamente, cerca de 65% (nos vegetais pode chegar a 95%) da célula, e se temos que imergir nosso fragmento em um ambiente totalmente incompatível com a água, vamos ter que retirá-la para permitir a penetração das substâncias endurecedoras, concordam? Pois bem, só temos uma maneira de atingir esse objetivo: por meio da desidratação. Essa etapa caracteriza-se pela imersão dos fragmentos em recipientes contendo álcoois graduados de 50%, 70%, 80%, 90% e 100%. A ideia da graduação crescente é mergulhar em ambiente com porcentagens de água e álcool que favoreçam a retirada progressiva de água e a penetração lenta do álcool, pois isso evitará que haja enrugamento dos tecidos. Por exemplo: 70% de álcool e 30% de água, e assim por diante. Além do mais, o outro objetivo do álcool será a preparação para a próxima etapa, ou seja, de tornar a peça transparente – a diafanização.

Diafanização

Esta é a etapa que se destina ao clareamento da peça, tornando-a transparente, e que, principalmente, a prepara para a penetração da substância inclusora. Da mesma forma, o fragmento é imerso num recipiente contendo o líquido diafanizador (ex.: xilol). Essa etapa pode ser dispensável, especialmente para tecidos vegetais.

Inclusão

Finalmente chegamos com o nosso fragmento na etapa de inclusão, que é a sua imersão em parafina ou em resina plástica, obviamente enquanto elas estão em seu estado líquido (Figura 6a). Como podemos observar na Figura 6, a substância é despejada num recipiente, que receberá o fragmento, formando o *bloco* (Figura 6 b). Agora sim, temos condições de obter os cortes histológicos. Vamos a eles então!



Figura 6a – Imersão em parafina



Figura 6b – Inclusão em parafina

Microtomia

Consiste na obtenção de cortes delgados e é feita com o auxílio de navalhas de aço (ML), ou de diamante (MET), adaptadas a um equipamento apropriado para esse fim, o *micrótomo*. Apenas com o auxílio do micrótomo conseguiremos obter cortes de espessura inferior a uma dezena de micrômetros, os quais são adequados para observações ao microscópio de luz. Os cortes são então distendidos em água e coletados em lâminas de vidro (ML – Figura 7a), ou telas de cobre (MET – Figura 7b).





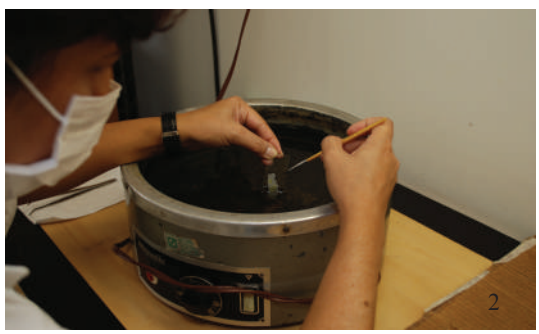


Figura 7a – a) Sequência de preparo para microscopia de luz – 1) micrótomo; 1i) etapas de formação da fita; 2) coleta das fitas imersas em banho-maria e colocação em lâmina de vidro.

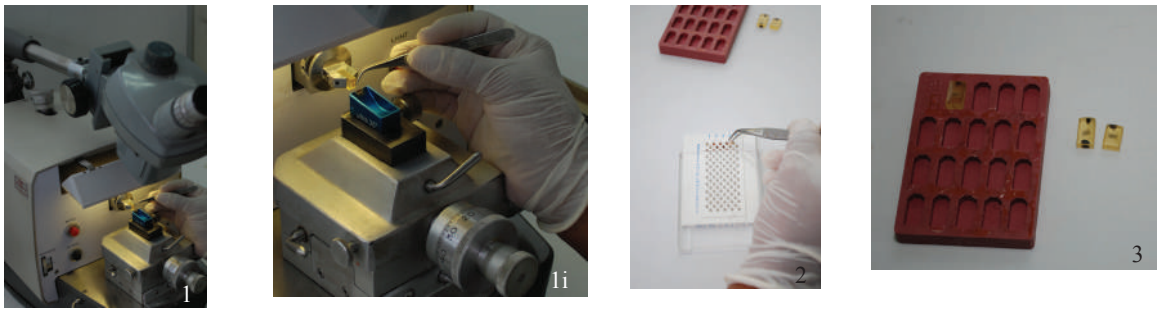


Figura 7b – Microtomia para MET – Cortes coletados em telas de cobre. b) Sequência de preparo para microscopia eletrônica de transmissão – 1) ultramicrótomo; 1i) obtenção da fita (navalha de diamante); 2) fitas já alocadas nas telas de cobre; 3) blocos de resina epon com fragmentos (extremidade preta) destinados a cortes para MET.

Desparafinação

Dependendo do meio de inclusão empregado, este pode ou não permanecer junto à secção do material obtida ao micrótomo. No caso da parafina, esta deve ser removida após a obtenção do corte, o que é feito com o uso do xilol, uma substância solvente.

Coloração (ML) e Contrastação (MET)

As técnicas de coloração procuram basicamente associar o caráter básico ou ácido do corante com o do tecido a ser corado. Isso se faz necessário porque as estruturas teciduais têm índice de refração muito próximo, quando refletidos pela luz do microscópio, e isso impede a diferenciação entre elas. Um aspecto curioso é que a coloração somente será possível se o material estiver hidratado, exceto para material em resina! Lembrem-se que desidratamos nosso material com sequências crescentes de álcoois, para que fosse possível a inclusão da resina ou parafina! Pois bem, no caso do material incluído, após a remoção desta, os cortes são novamente hidratados. A hidratação (Figura 8a) é feita com série alcoólica, porém no sentido inverso, ou melhor, na sequência decrescente de álcoois com consequente acréscimo de água no espécime. Dessa forma, teremos afinidade do corante com a estrutura a ser corada.



Figura 8a – Etapas do processo de hidratação

Assim, se o objetivo for, por exemplo, observar o núcleo da célula que contém, em sua maioria, filamentos de DNA e de RNA, ambos de conteúdo majoritariamente ácido, se deverá usar um corante básico, e o núcleo terá o caráter *basófilo*. Já o citoplasma das células é composto, em sua maioria, por estruturas proteicas (caráter básico), portanto serão coradas por substâncias ácidas e serão, então, *acidófilas*. O exemplo mais tradicional dessa coloração é o corante hematoxilina-eosina (HE), em que a hematoxilina (básica) cora o núcleo e a eosina (ácida) cora o citoplasma.

Podemos ir mais além! É possível, por meio de técnicas histoquímicas, a identificação do grupamento ou do radical químico. Por exemplo, vocês têm condições de identificar no núcleo, por exemplo, especificamente, o DNA. E assim é verdade para a identificação específica de um carboidrato, de um íon ou de uma proteína, esta através da marcação pela imunocitoquímica e/ou fluorescência.

Na prática, se faz o seguinte:

- imergir a lâmina em recipiente contendo os corantes (Figura 8b), por tempo indicado para cada objetivo;
- pingar uma gota do gel de montagem sobre a lamínula (o gel de montagem deve ter o índice de refração semelhante ao do vidro, do contrário haverá prejuízo durante a observação do fragmento ao microscópio de luz); os géis de montagem ou "meio de montagem" mais comuns são feitos à base de resinas naturais ou sintéticas. Para preparações **temporárias**, uma gota d'água pode ser usada como meio, mas lembrem-se que este material não terá qualidade para ser mantido para posteriores análises;

- depositar a lamínula, com a face contendo a gota, sobre a região do fragmento; a lamínula protege o corte (Figura 8c).

Nosso material está pronto para ser observado!



Figura 8b – Corantes para ML



Figura 8c – Colocação da lamínula em lâminas de vidro

Ressalta-se aqui a infinidade de corantes e associações diferentes e possíveis que tornam as técnicas histológicas (Figura 9a) e histoquímicas extremamente atraentes. No entanto, como já comentamos anteriormente, tratam-se de técnicas experimentais, que apenas são possíveis de serem executadas em laboratórios os quais apresentem o mínimo necessário para sua condução. Lembramos, ainda, que as técnicas para preparo de material para observação do material ao microscópio eletrônico de transmissão são semelhantes às apresentadas ao microscópio de luz, entretanto exigem maiores cuidados e equipamentos mais sofisticados. Esse preparo visa preservar detalhes do citoplasma das células, da matriz extracelular, dos tecidos nervoso e muscular etc., que só serão perceptíveis quando observados ao microscópio eletrônico de transmissão (Figura 9b).

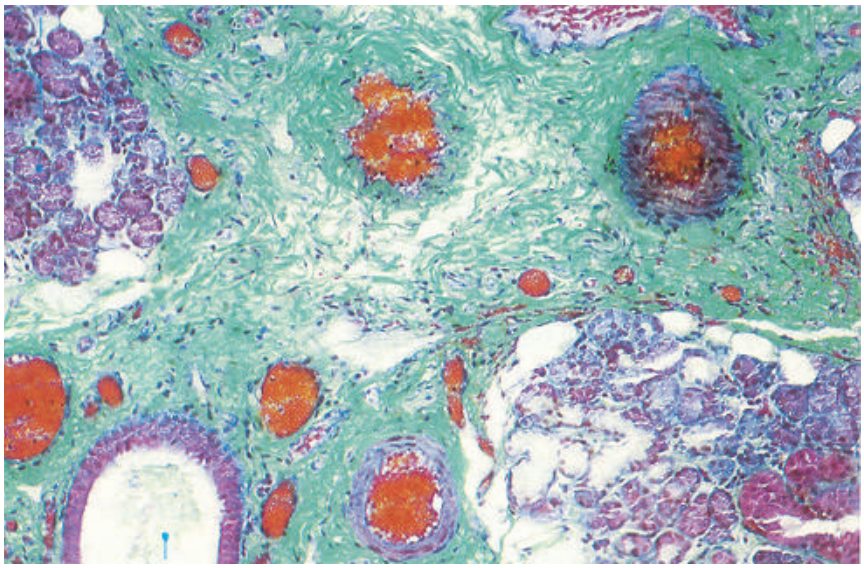


Figura 9a – Tecido visto à ML – Cortes coletados em lâminas de vidro

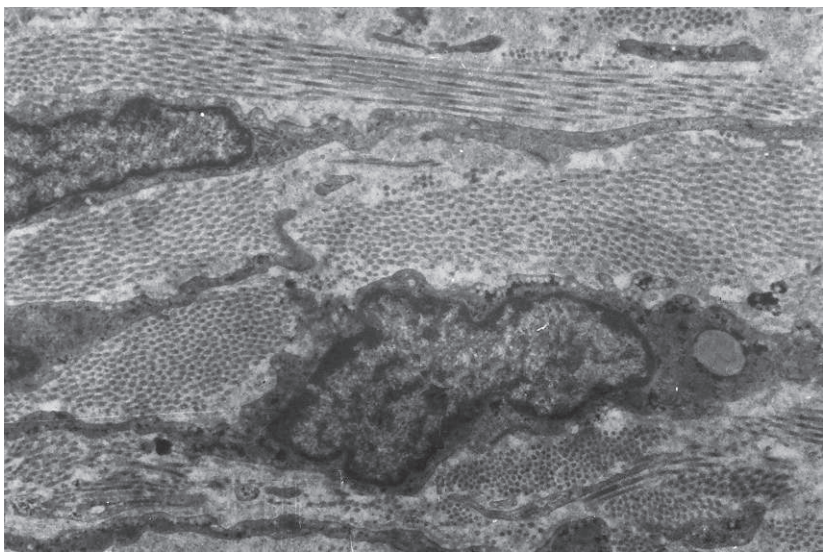


Figura 9b – Tecido visto à MET – Os cortes foram coletados em telas de cobre

Para células e tecidos vegetais os corantes mais empregados têm a função principal de evidenciar a parede celular, sendo bastante comum o emprego de safranina (cora, de vermelho, as paredes lignificadas) e de azul de astra, ou verde rápido (cora em azul ou verde, respectivamente, as paredes não lignificadas).

Esclarecimentos importantes

Viemos ao longo desta aula discutindo, em linhas gerais, as metodologias empregadas para a observação de material à microscopia de luz e eletrônica de transmissão. No entanto, não podemos deixar de citar outros tipos de microscopias disponíveis na atualidade de extrema importância, como microscopia confocal

(Figura 10a), microscopia de fluorescência (Figura 10b), microscopia eletrônica de varredura (Figura 10c), e assim por diante. Todas elas apresentam particularidades que demandariam mais espaço para sua exposição e vão desde o momento de preparação do material até o momento de observação.

No entanto, grosso modo, podemos afirmar que a base de funcionamento desses aparelhos é similar ao microscópio de luz, ou seja, existe um conjunto de lentes que trabalham para transmitir a imagem ao olho humano. Esperamos, no entanto, ter apresentado, ainda que em linhas gerais, algumas informações básicas que pudessem nortear nosso entendimento sobre obtenção de material para estudo em microscopia.

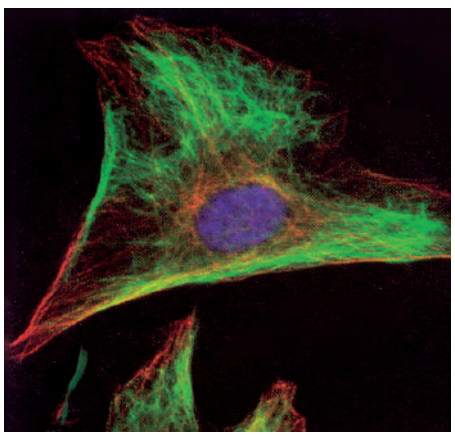


Figura 10a – Neurônios observados à microscopia confocal

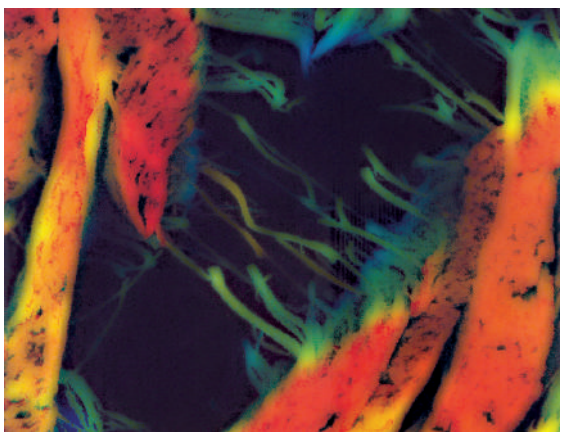


Figura 10b – Fibras colágenas em verde, vistas à microscopia de fluorescência

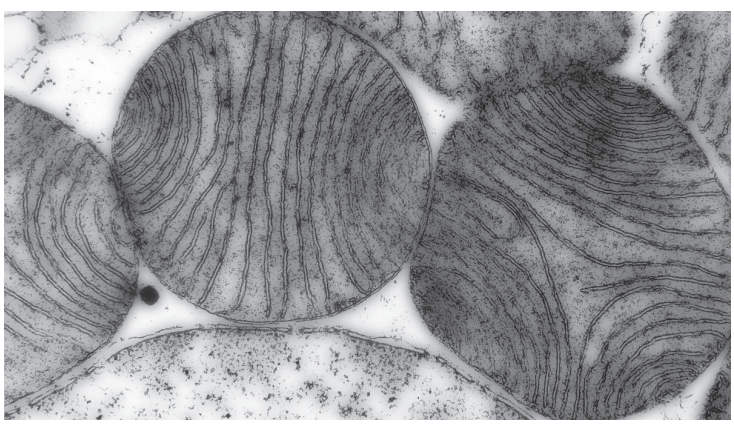


Figura 10c – Mitocôndrias observadas à microscopia eletrônica de transmissão

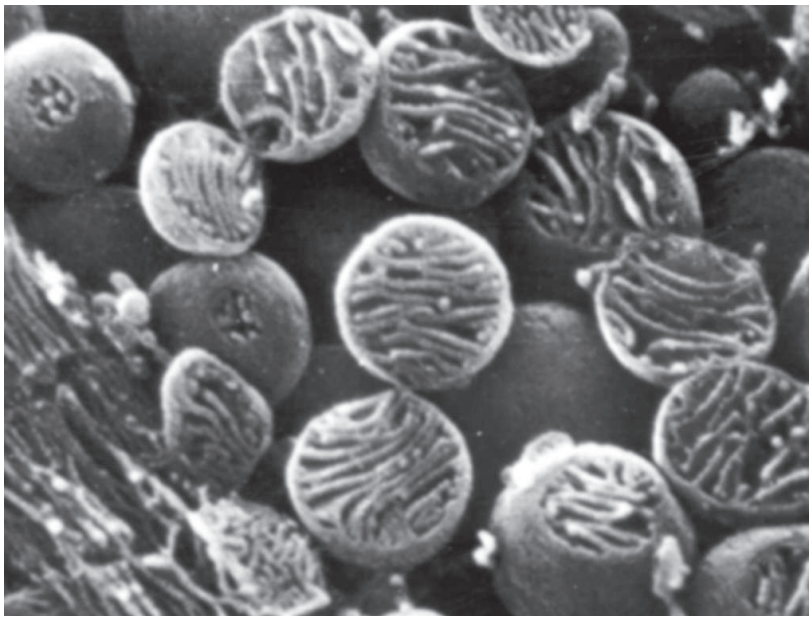


Figura 10d – Mitocôndrias observadas à microscopia de varredura

A célula e suas organelas

Nas próximas aulas iniciaremos nossa "viagem" para dentro da célula. Vocês já discutiram em outros fascículos que as células podem ocorrer isoladamente, ou seja, constituir um ser vivo unicelular, como vírus e bactérias, ou em organismos multicelulares, que são agrupamentos de tipos celulares com funções semelhantes e/ou complementares os quais se reúnem para constituir os tecidos, que, por sua vez, compõem os órgãos. Esses são responsáveis por todas as complexas funções de um ser vivo, como deslocamento, respiração, digestão, e assim por diante; funções estas que são o resultado das organelas constituintes das células. Nas próximas aulas, vamos, então, conhecer algumas particularidades das células e dos seus arranjos para constituir os diferentes tecidos.

AUTOAVALIAÇÃO

- Cite a sequência de etapas da preparação de material histológico.
- Cite a importância de cada uma das etapas citadas.
- Diferencie os conceitos ácido e básico para o processo de coloração.

AULA 3

A membrana plasmática

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos
- Conhecer a composição e a organização da membrana plasmática.
- Compreender a relação entre a organização da membrana e suas propriedades.
- Compreender as propriedades da membrana relacionadas à sua assimetria.
- Relacionar a membrana plasmática às organelas membranosas citoplasmáticas.

A MEMBRANA PLASMÁTICA

A membrana plasmática e as citomembranas que envolvem as organelas presentes nas células eucariontes são constituídas de fosfolipídios, proteínas e colesterol. O que se difere entre elas é a distribuição de fosfolipídios e a expressão de proteínas.

As membranas separam compartimentos e apresentam permeabilidade seletiva, devido à presença de proteínas específicas que controlam o trânsito de substâncias entre esses compartimentos. A membrana plasmática é a interface da célula com as demais células e com a matriz extracelular, ou a parede celular (por exemplo, nos vegetais). É por meio da membrana que a célula vai absorver nutrientes, receber estímulos para sintetizar ou degradar substâncias, movimentar, contrair, diferenciar, dividir ou, até mesmo, morrer. Se a membrana fosse composta apenas por fosfolipídios, o fator determinante para a passagem de uma substância seria a sua hidrofobicidade e tamanho. Mas, primeiramente, vamos compreender como esses componentes se organizam. Os fosfolipídios formam uma bicamada, com suas duas cadeias hidrofóbicas de ácidos graxos, voltadas para o centro. Assim, a membrana apresenta um folheto externo, em contato com o meio extracelular, e um folheto interno, em contato com o citoplasma (Figura 1).

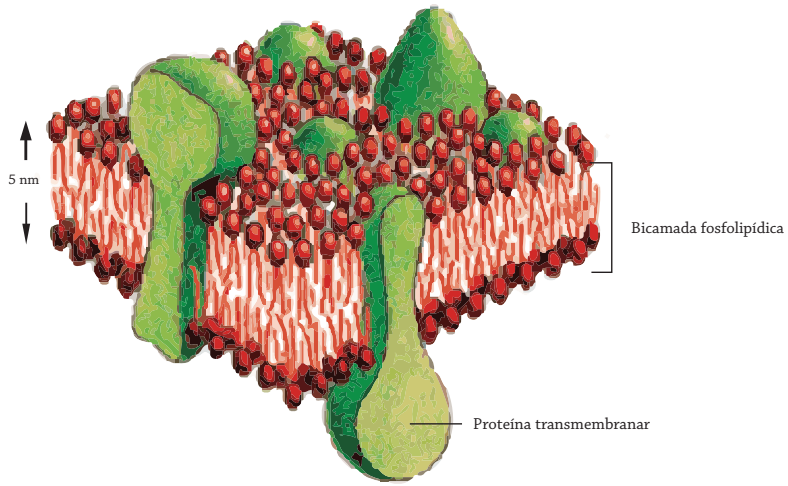


Figura 1 – Esquema tridimensional da organização da membrana plasmática

Assim, cada unidade de membrana observada ao microscópio eletrônico apresenta duas porções hidrofílicas elétron-densas e uma hidrofóbica elétron-lúcida no centro. As mitocôndrias e o envoltório nuclear apresentam duas unidades de membrana. As proteínas se encaixam à bicamada fosfolipídica na sua face protoplasmática, na sua face externa, ou atravessam a membrana (Figura 2). O colesterol se insere entre os fosfolipídios.

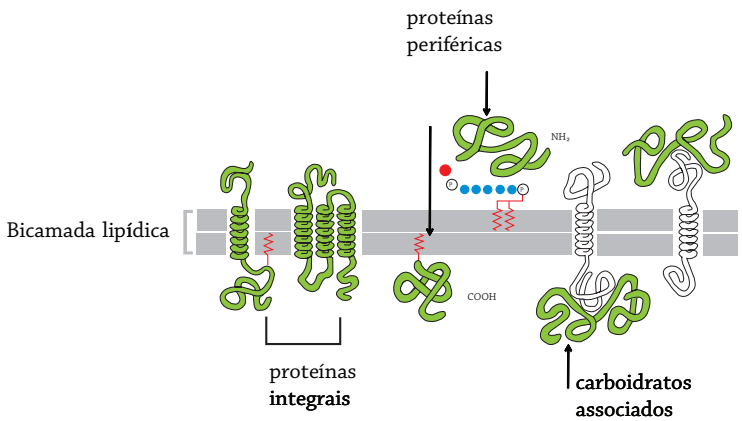


Figura 2 – Proteínas associadas à membrana plasmática. Observe que há proteínas transmembranares que podem atravessar a bicamada fosfolipídica várias vezes

A COMPOSIÇÃO DA MEMBRANA PLASMÁTICA: FOSFOLIPÍDIOS, PROTEÍNAS, COLESTEROL, GLICOCÁLICE

Os principais **fosfolipídios** nas membranas são a fosfatidilcolina, a fosfatidiletanolamina, a fosfatidilserina, o fosfatidilinositol e a esfingomielina (Figura 3). Além desses, estão presentes glicolipídios e o colesterol, exclusivo dos animais eucariontes.

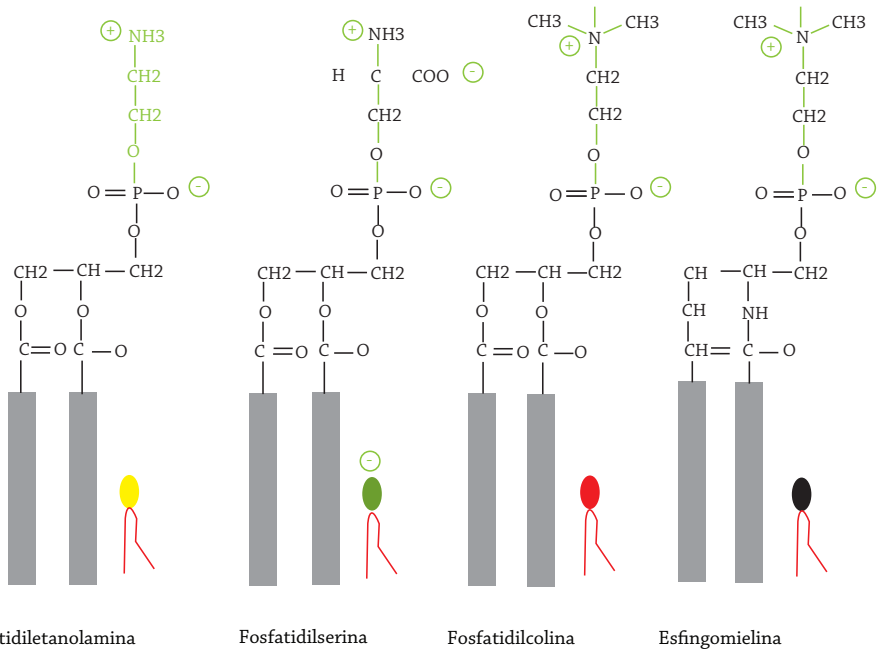


Figura 3 – Principais fosfolipídios que formam a bicamada fosfolipídica da membrana plasmática

O **colesterol** é distribuído nos dois folhetos e contribui para a regulação da fluidez da bicamada fosfolipídica. Em algumas regiões da membrana, o colesterol se concentra associado a proteínas e à esfingomielina, formando regiões menos fluidas da membrana, chamadas de **balsas lipídicas**, ou *lipid rafts*.

As **proteínas** da membrana plasmática podem estar associadas ao folheto citoplasmático ou ao folheto externo da membrana, sendo chamadas de proteínas periféricas, ou ainda, atravessarem a membrana, inserindo-se na parte hidrofóbica por meio das sequências de aminoácidos hidrofóbicos, consideradas proteínas integrais. Essas proteínas podem funcionar como receptores de fatores de crescimento ou hormônios, como transportadores de glicose, de colesterol, de aminoácidos, de íons como Na^+ e K^+, ou, ainda, como moléculas de adesão que conectam a célula a outras células ou à matriz extracelular. As proteínas de membrana podem também se associar a moléculas sinalizadoras dentro da célula, que poderão desencadear reações sequenciais levando à ativação de certos genes e à repressão de outros (veja a Aula 13). Algumas proteínas da membrana se associam aos componentes do citoesqueleto, o que altera sua mobilidade na bicamada fosfolipídica. A interação dessas proteínas com seus ligantes pode resultar em alterações de forma e de mobilidade das células.

Tipos diferentes de células expressam proteínas de membrana diferentes, o que as tornam singulares em sua interação com o meio onde vivem – por exemplo, um hormônio só agirá sobre células que apresentem receptores para ele, assim como as células móveis só conseguem penetrar em um tecido se apresentarem moléculas

de adesão que permitam sua interação com a matriz extracelular. Como você verá posteriormente, também são as proteínas expressas nas membranas das diferentes organelas que determinam boa parte das suas funções e sua distribuição. A propósito, essa bicamada fosfolipídica, junto às proteínas, tem a espessura de apenas 5nm, portanto não pode ser observada ao microscópio de luz.

A ORGANIZAÇÃO DA MEMBRANA PLASMÁTICA: O MODELO DO MOSAICO FLUIDO

Não nos basta saber a composição da membrana para compreender todas as suas atividades. Por exemplo, sabemos que algumas células, como as do epitélio intestinal, são polarizadas, isto é, existem diferenças morfológicas e fisiológicas entre a parte **apical** e a parte **basal** da célula. Algumas substâncias são transportadas do lado apical para a parte basal ou lateral, como na absorção de nutrientes da dieta; outras substâncias são secretadas da parte basolateral para a parte apical e secretadas na luz do intestino. Isso significa que as proteínas transportadoras presentes na parte apical são diferentes daquelas presentes na superfície basolateral da célula.

Outras células secretam substâncias para apenas uma face da célula. Assim, em certas situações, a distribuição das proteínas no "mar" de fosfolipídios não é homogênea. Experiências que permitem a visualização de proteínas específicas na membrana mostram que elas podem se concentrar em certas regiões, após estímulos específicos. Dessa forma, as proteínas podem se movimentar na bicamada fosfolipídica. A microscopia eletrônica, com alto poder de resolução, e a utilização de moldes de carbono de preparações de células criofraturadas permitiram a observação dos folhetos externos e internos das membranas, assim como a distribuição relativa de proteínas nos dois folhetos. Através de análise sintética dessas observações, provenientes de metodologias diversas, foi construído o modelo atualmente aceito da organização da membrana plasmática: o **modelo do mosaico fluido** (Figura 4).

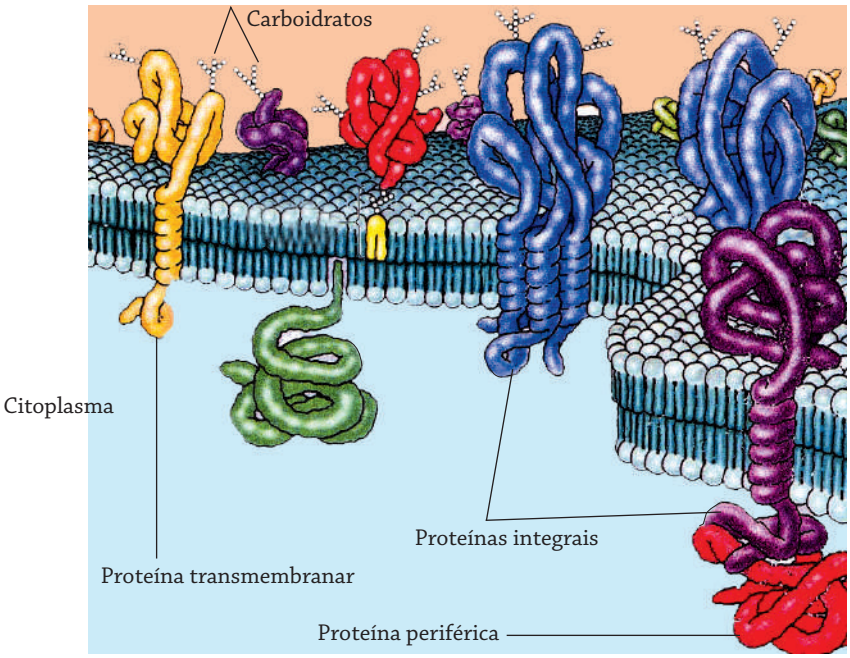


Figura 4 – Organização e composição da membrana plasmática

Trata-se de mosaico, pois as proteínas podem se distribuir na membrana homogeneamente ou de maneira polarizada, dependendo do tipo de célula ou de seu estado de ativação. Como as proteínas podem se mover na membrana, foi proposta a sua fluidez. Além disso, os fosfolipídios podem fazer movimentos rotacionais em torno de seu próprio eixo, ou translacionais, no plano do mesmo folheto da bicamada fosfolipídica. Outros fatores que contribuem para a fluidez da membrana são a quantidade e a distribuição do colesterol. Recentemente, foram descritas regiões menos fluidas da membrana, associadas a certas proteínas transmembranares e à presença de colesterol e esfingolipídios com cadeias saturadas. Essas regiões menos fluidas foram denominadas balsas lipídicas, ou *lipid rafts*. Essas balsas lipídicas, associadas às proteínas caveolinas, participam da sinalização celular, concentrando ou separando proteínas específicas na superfície celular.

A fluidez da membrana permite, entre outros, a movimentação das proteínas periféricas e integrais, as quais, mesmo presas à estrutura da membrana, podem se deslocar para diferentes pontos da célula ou de determinada organela.

A ASSIMETRIA DA MEMBRANA: FOSFOLIPÍDIOS, GLICOCÁLICE, BALSAS LIPÍDICAS (*LIPID RAFTS*), PROTEÍNAS ASSOCIADAS AOS FOLHETOS INTERNOS E EXTERNOS DA BICAMADA FOSFOLIPÍDICA

Os dois folhetos da membrana não são idênticos e vários fatores contribuem para essa assimetria, entre eles a distribuição dos fosfolipídios. No folheto externo predominam a fosfatidilcolina e a esfingomielina. Além disso, predominam aí os glicolipídios e a porção glicosilada das glicoproteínas. Já no folheto interno, ou protoplasmático, predominam a fosfatidilserina, a fosfatidiletanolamina e um quinto fosfolípide, o fosfatidilinositol, importante na sinalização intracelular. A fosfatidilserina contribui para a carga negativa no lado interno da célula. Enzimas especiais são capazes de transpor fosfolipídios entre o folheto interno e o externo, e vice-versa.

O **glicocálice** é característico do folheto externo da membrana (Figura 5). Ele é formado por glicolipídios, gangliosídios, glicoproteínas e proteoglicanos. Os gangliosídeos são glicolipídios ricos em ácido siálico, abundantes em neurônios e na superfície apical de células epiteliais. Os proteoglicanos são proteínas com longas cadeias de açúcares, presentes na matriz extracelular, ou associados à membrana das células.

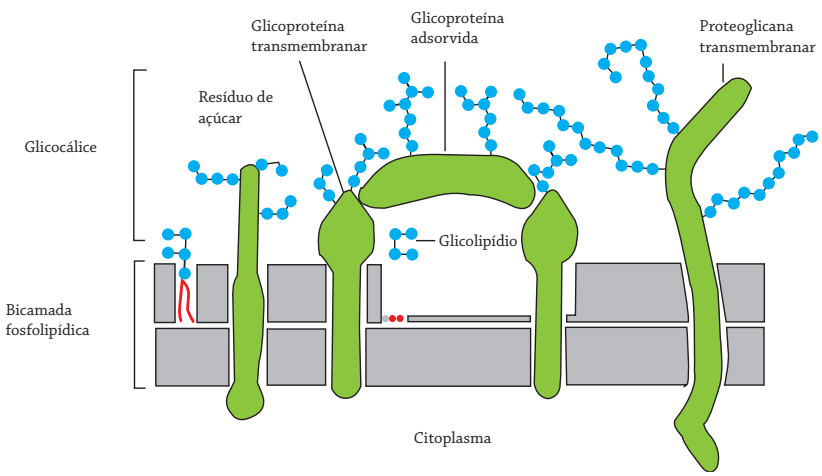


Figura 5 – O glicocálice. Formado por glicoproteínas, glicolipídios e proteoglicanos, o glicocálice é a região que primeiramente entra em contato com as outras células e com a matriz extracelular

Uma das principais funções do glicocálice é permitir o contato entre células e com a matriz extracelular. Moléculas, como as selectinas (ver Aula 13), são as primeiras a se ligarem aos resíduos de açúcar de outras células, iniciando o processo de adesão e migração celular. No trato gastrointestinal, o glicocálice tem a função de tamponar o pH próximo à superfície das células, possibilitando a ação correta das proteínas transportadoras. Ainda no intestino, é por meio do glicocálice que as bactérias e micro-organismos, que formam nossa

microbiota normal, se instalam para colonizar as diferentes regiões do trato gastrointestinal. Outra função importante exercida pelo glicocálice é o fenômeno da inibição da proliferação celular por contato. Isso pode ser facilmente demonstrável em culturas de células que proliferam até que umas toquem as outras, através de seus glicocálices. Esse contato na camada confluente de células desencadeia a sinalização intracelular, que inibe a proliferação celular.

A PERMEABILIDADE DA MEMBRANA

Se a membrana plasmática fosse composta apenas por fosfolipídios e colesterol, muitas das substâncias essenciais para o metabolismo celular não poderiam entrar. Entre elas, a glicose, os aminoácidos e vários íons fundamentais para as atividades celulares (Figura 6).

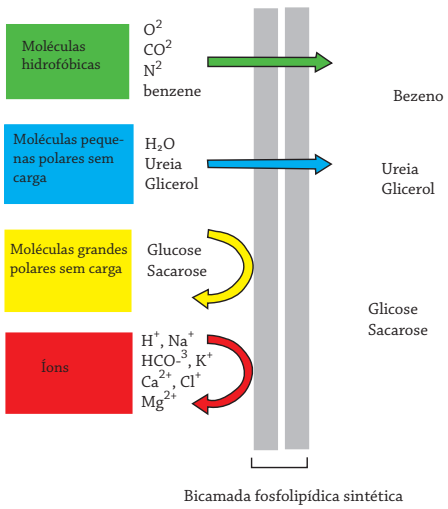


Figura 6 – Permeabilidade de uma bicamada fosfolípidica às moléculas essenciais ao metabolismo celular

O papel da bicamada fosfolipídica na separação dos compartimentos intra e extracelular se deve à hidrofobicidade das longas cadeias de ácidos graxos dos fosfolipídios na região central. Assim, substâncias hidrossolúveis no citosol ou no meio extracelular não atravessam livremente essa barreira. São as proteínas das membranas que podem transportar seletivamente substâncias através da membrana, mesmo contra os gradientes de concentração. Até substâncias que poderiam, teoricamente, atravessar a membrana, como a água, certos ácidos graxos e o colesterol, possuem receptores proteicos de membrana que permitem controlar sua entrada e saída, de acordo com o estado funcional da célula.

O TRANSPORTE SELETIVO POR MEIO DA MEMBRANA

Pequenas moléculas podem ser deslocadas pelo sistema de transporte a favor de seu gradiente eletroquímico por transporte passivo, ou contra o gradiente, através do transporte ativo, que requer gasto de energia. As proteínas transmembranares podem facilitar o transporte passivo, atuando como canais ou como proteínas carreadoras (Figura 7).

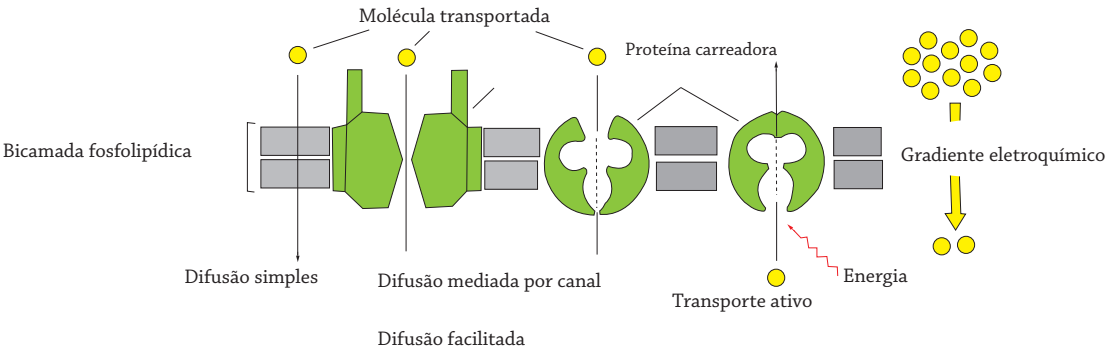


Figura 7 – Exemplos de proteínas transmembranares que realizam transporte ativo e passivo

Nesse caso, mesmo que o transporte envolva a alteração da conformação das proteínas, o processo não requer energia, pois se dá a favor do gradiente eletroquímico. No transporte ativo, o transporte contra o gradiente eletroquímico requer a mudança conformacional e gasto de energia. Algumas proteínas formam transportadores ativos, que transportam solutos juntos ou em direção oposta, como a bomba de Na^+ e K^+ (Figura 8).

Nos vegetais, muitos nutrientes minerais que chegam pelo xilema são distribuídos pela planta e, ao chegarem à célula, são transportados ou não para o citosol por meio dessas proteínas transmembranares, muitas vezes com gasto de energia.

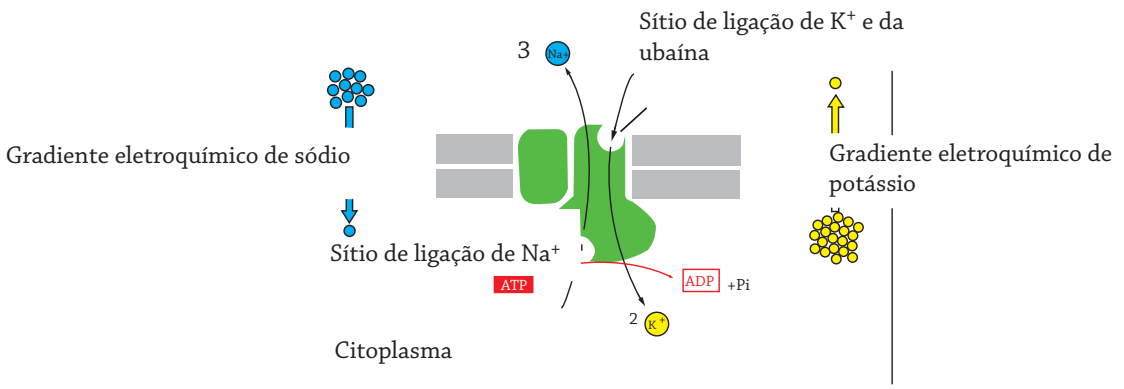


Figura 8 – Bomba de Na^+/K^+ transporta, em sentido contrário, dois íons K^+ para dentro da célula para três íons Na^+ para fora da célula. Esse processo é importante na condução do impulso nervoso ao longo do axônio

Outra maneira de troca de substâncias entre o meio intra e extracelular envolve a formação de vesículas intracelulares que podem se fundir à membrana plasmática e liberar seus conteúdos, no caso da secreção de enzimas, a exocitose, ou, ao contrário, a formação de vesículas endocíticas, a partir da membrana plasmática. O equilíbrio entre esses dois processos contribui para a manutenção da constância da superfície celular.

Endocitose

A endocitose é o termo geral utilizado para o transporte de material para dentro da célula, que pode ser feito por processos mais específicos, como a micropinocitose mediada por receptores, a fagocitose ou a pinocitose (Figura 9).

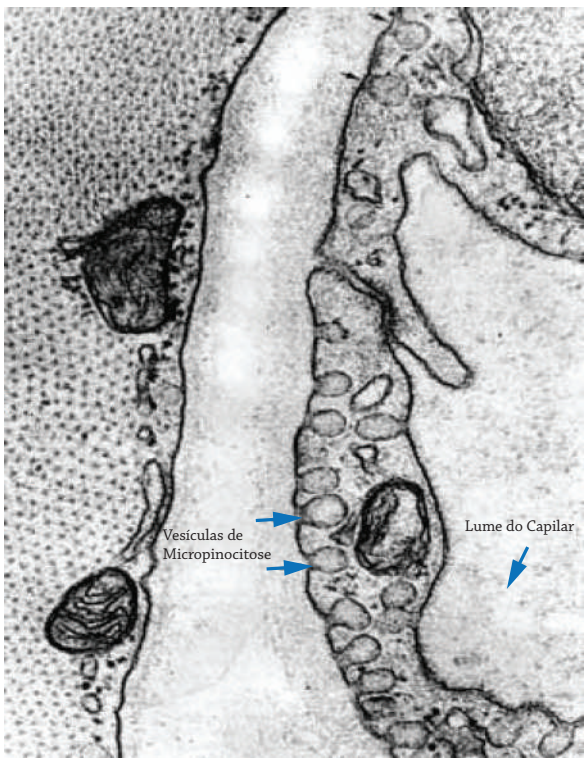


Figura 9 – A fotomicrografia mostra o transporte entre o músculo estriado esquelético e um capilar sanguíneo

Um dos critérios para se distinguir o processo de fagocitose e de pinocitose é o tipo de projeção da membrana plasmática que é formado no processo. Para a endocitose de partículas maiores, como bactérias, hemácias ou células danificadas, são formados pseudópodes e o processo de endocitose é a fagocitose (Figura 10).

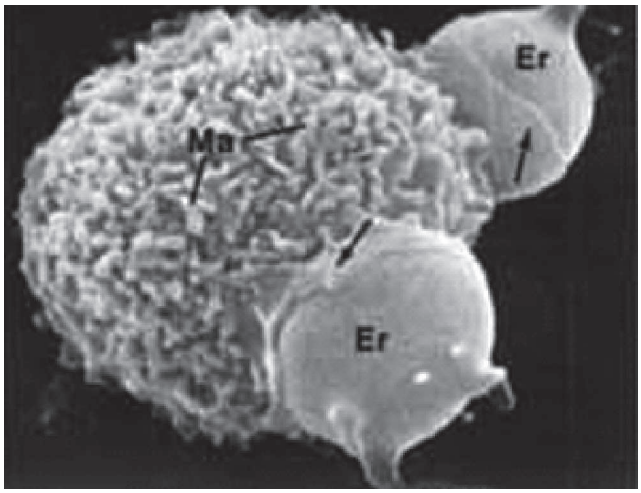


Figura 10 – Macrófago fagocitando hemácias em microscopia eletrônica de varredura

Na pinocitose, pequenas projeções da membrana em forma de ondas delgadas, chamadas de lamelipódios, são formadas e englobam substâncias do meio líquido, aparentemente sem um processo seletivo. Assim, uma vesícula endocítica, resultante da pinocitose, pode conter maior variedade de substâncias que a endocitose, mediada por receptores. A micropinocitose seletiva envolve sempre a interação entre ligante e receptor, sendo, portanto, bem específica. Além disso, na micropinocitose ocorre concentração do complexo ligante-receptor em determinada área da membrana plasmática, o que desencadeia um processo de polimerização de proteínas no lado intracitoplasmático, resultando na invaginação dessa região. Destaca-se, então, da membrana plasmática uma vesícula recoberta de proteínas que farão a sua conexão com as vias de transporte intracelulares associadas ao citoesqueleto. A clatrina é uma das proteínas que se polimeriza junto à membrana para a micropinocitose e forma vesículas esféricas, transportadas, principalmente, por meio dos microfilamentos de actina. As caveolinas são outro tipo de proteínas associadas às balsas lipídicas. Em aulas posteriores vocês verão como, através da via endocítica, a membrana plasmática se conecta à via endocítica e ao sistema de endomembranas.

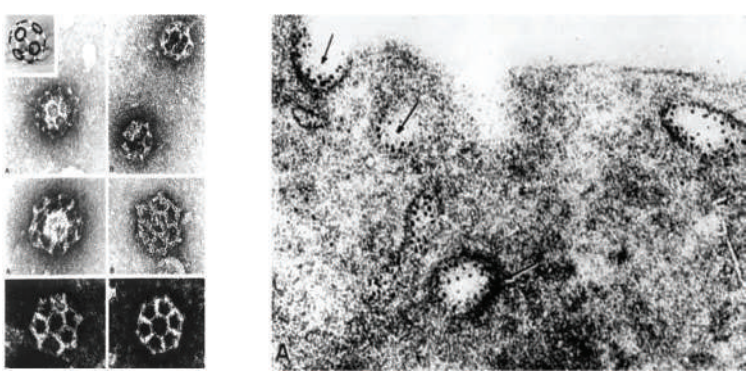


Figura 11 – Micropinocitose seletiva. Após a interação ligante-receptor, a clatrina se polimeriza, formando uma pequena invaginação, chamada de *coated pit*, ou poço recoberto. A vesícula recoberta por clatrina se destaca da membrana. A clatrina se liga aos microfilamentos de actina e transporta a vesícula em direção ao interior da célula. Depois a clatrina se despolimeriza e pode ser reciclada

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Ao estudar os capítulos recomendados para o aprendizado da membrana plasmática, vocês verão que técnicas especiais de microscopia eletrônica são utilizadas. Observe as micrografias eletrônicas nos livros e aquelas disponíveis no laboratório de aulas práticas.

Observe o que significa uma unidade de membrana na microscopia eletrônica de transmissão.

AUTOAVALIAÇÃO

- Quais os componentes da membrana plasmática?
- Como se organizam esses componentes?
- O que caracteriza a assimetria da membrana plasmática?
- O que é glicocálice? E quais as suas funções?
- Quais as funções das proteínas associadas à membrana plasmática?
- Como se dá o transporte de moléculas por meio da membrana plasmática?
- O que é endocitose? E quais os principais mecanismos envolvidos?

AULA 4

A formação da parede celular e a citocinese

Élder Antônio Sousa e Paiva

Objetivos
- Conhecer a origem, a composição e a organização da parede celular.
- Compreender a relação entre organelas e a síntese da parede.
- Compreender a citocinese na célula vegetal.
- Conhecer os tipos de parede celular e as comunicações entre células.
- Conceituar simplasto e apoplasto.

Ao final da telófase, os núcleos encontram-se nos polos da célula e, mesmo tendo sido concluída a cariocinese, a célula ainda é uma só, ou seja, a citocinese não se completou. Temos, então, uma célula com dois núcleos, e o primeiro passo da citocinese é a formação de microtúbulos (pela polimerização da tubulina) na região localizada entre os núcleos. Esses microtúbulos são caracteristicamente dispostos no sentido do eixo imaginário que une os dois núcleos e apresenta a forma de um barril – a esse conjunto de microtúbulos atribuímos a denominação de fragmoplasto (Figura 1). A função do fragmoplasto é orientar vesículas originárias dos dictiossomos (veja mais a respeito de dictiossomos na Aula 11), que estão distribuídos por todo o protoplasto da célula.

As vesículas, oriundas dos dictiossomos, migram para a região equatorial da célula e rompem-se, liberando o conteúdo de natureza péctica, compondo uma matriz de pectinas. As vesículas vazias juntam-se, formando uma rede de túbulos os quais se dispõe em ambos os lados da matriz de pectinas, que se forma na região equatorial; esses túbulos estão envolvidos na síntese de calose (β1-3 glucano), a qual se junta à matriz de pectinas para compor uma estrutura denominada placa celular. À medida que mais vesículas são agregadas, a placa celular cresce em direção centrífuga e o fragmoplasto "migra" para as margens da placa celular, orientando a fusão de novas vesículas e

o crescimento da placa. Ao final do processo, a placa celular atinge a membrana plasmática, dividindo, desse modo, a célula.

A rede de túbulos formada em ambos os lados da placa celular desaparece, e as membranas residuais das vesículas dos dictiossomos, dispostas de ambos os lados da placa celular, completam a membrana plasmática de cada nova célula. A citocinese ainda não está concluída, pois a parede celular ainda não está pronta. Nessa etapa, proteínas integrais na membrana plasmática iniciam a síntese de celulose. Essas proteínas formam as rosetas de celulose sintetase – enzima responsável por catalisar a polimerização da glucose em celulose. Assim, moléculas de glucose são removidas da matriz citoplasmática e unidas umas as outras por ligações β1-4, formando cadeias lineares de 15.000 a 25.000 resíduos de glucose. Em cada roseta várias moléculas de celulose são formadas simultaneamente e juntam-se formando microfibrilas de celulose, as quais são lançadas no espaço entre a membrana plasmática e a placa celular. A partir desse momento, a placa celular passa a ser denominada *lamela mediana*. Simultaneamente à formação das microfibrilas de celulose, outros compostos são produzidos pelos dictiossomos e transportados em vesículas que se fundem à membrana plasmática e liberam seu conteúdo, agregando-o à celulose. Esses compostos são as pectinas e as hemiceluloses (carboidratos não celulósicos). Nasce a parede celular primária: um agregado de fibrilas de celulose, hemiceluloses e pectinas. Acompanhe, observando a Figura 1, a formação da placa celular e a formação da parede celular, que ocorrem durante a citocinese na célula vegetal.

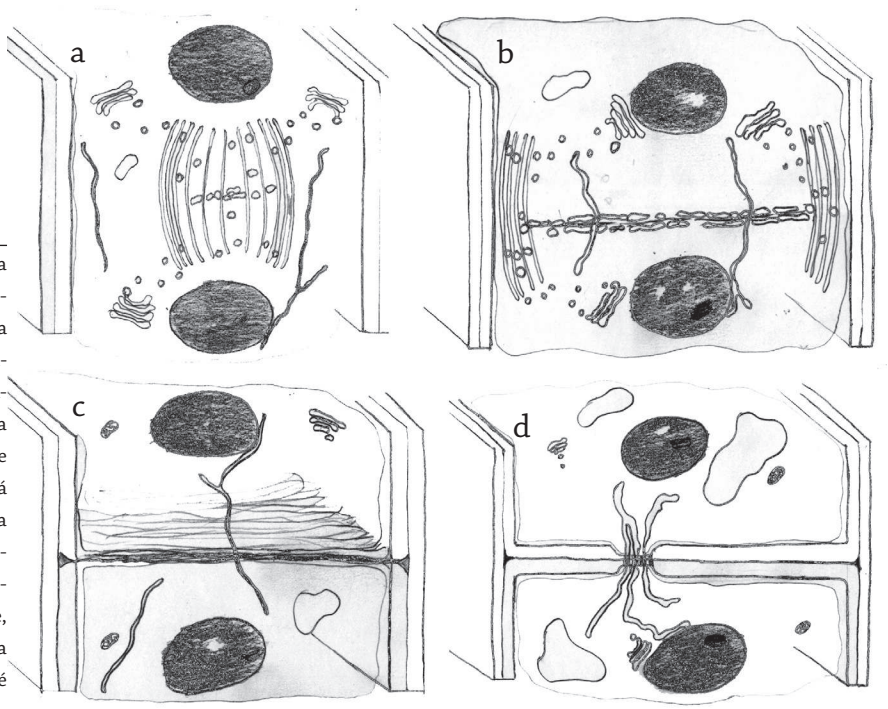


Figura 1 – Diagramas mostrando a sequência de eventos durante a citocinese na célula vegetal. a) Célula ao final da telófase, notar a formação do fragmoplasto entre os núcleos; b) Fragmoplasto na periferia da placa celular; c) Fase de síntese de parede celular, protoplastos já individualizados. Notar a presença de segmentos de retículo endoplasmático atravessando de um protoplasto a outro; d) Final da citocinese, a parede primária está formada e a comunicação entre protoplastos é feita pelos plasmodesmos

A parede primária tem como principal característica a plasticidade, ou seja, pode ser moldada. Assim, a célula inicia um processo de expansão, no qual o protoplasto exerce pressão e a parede permite o crescimento celular. Uma célula pode, assim, aumentar seu volume em dezenas e até em centenas de vezes.

Veja a Figura 1 e pense: no espaço ocupado pela célula antes da divisão, temos, ao final do processo, duas células. Veja que isso não resultou em aumento de volume. Isso mesmo: duas células no espaço em que antes havia apenas uma. Portanto, a divisão celular não resultou em aumento de volume para o corpo vegetal. Então, como as plantas crescem? Por expansão. Grande parte do crescimento que observamos é resultado da expansão celular. Mas, cuidado: não podemos esquecer que sem a multiplicação gerada por meio das divisões celulares não existiriam células para expandir.

E por falar em expansão, devemos lembrar de outra importante contribuição dos microtúbulos para a formação da parede celular – a orientação das microfibrilas de celulose. As rosetas de *celulose sintetase* deslocam-se pela membrana à medida que ocorre a síntese da celulose. Esse deslocamento das rosetas de *celulose sintetase* é orientado pelos microtúbulos, que se dispõem paralelamente à membrana, servindo de trilhos para as rosetas (Figura 2). Assim, o sentido de deposição das fibrilas de celulose é definido pela célula, e essa orientação determinará, em parte, o sentido da expansão celular.

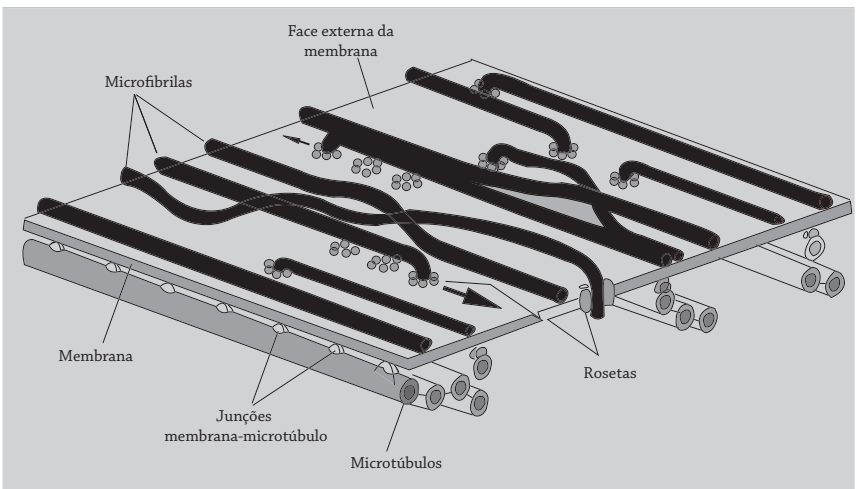


Figura 2 – Modelo ilustrando a distribuição das rosetas de celulose sintetase e a interação destas com microtúbulos responsáveis pelo sentido do deslocamento e, consequentemente, pela orientação das fibrilas de celulose

Antes de continuarmos nosso raciocínio, uma curiosidade: cada fibrila de celulose tem resistência comparável a um fio de aço do mesmo diâmetro. Agora, veja a Figura 3: se as fibrilas são orientadas em determinado sentido, a expansão ocorrerá no sentido oposto,

pois é mais fácil afastar as fibrilas que alongar ou romper uma delas. Em linhas gerais, podemos dizer que a forma que a célula terá após o seu completo desenvolvimento é determinada muito cedo, antes da expansão. Ao estudar os tecidos vegetais, vocês verão a enorme diversidade de tipos celulares e a grande diversidade de formas.

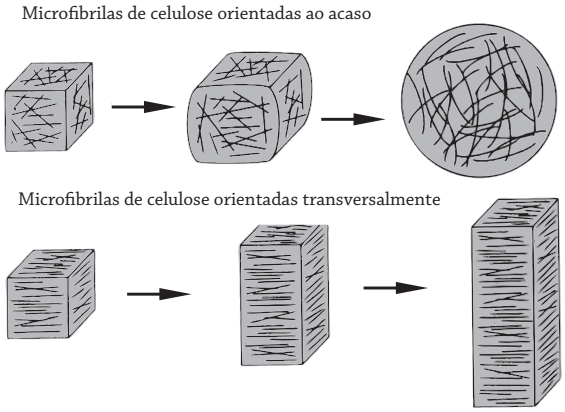


Figura 3 – Diagrama mostrando o efeito da disposição das fibrilas de celulose no sentido predominante da expansão celular e consequente formato da célula

Agora, veja a Figura 4. Em (a), a membrana de cada uma das células não se toca em nenhum ponto, e a parede celular, de ambas as células, mantém a independência dos protoplastos. Nas células animais isso não ocorre: nelas a membrana de células vizinhas está em contato e, além disso, junções GAP estabelecem pontos de maior contato e trocas entre células adjacentes. E nos vegetais? O contato entre protoplastos seria inexistente, como parece mostrar a Figura 4a? Não! As células vegetais mantêm ligações entre protoplastos ainda mais intensas: os plasmodesmos. Veja a Figura 4b, as regiões mais delgadas da parede primária onde poros permitem o contato entre os protoplastos de células adjacentes. Essas áreas mais delgadas são os campos de *pontoação primários*, e cada poro é uma interrupção na parede por onde passa um plasmodesmo.

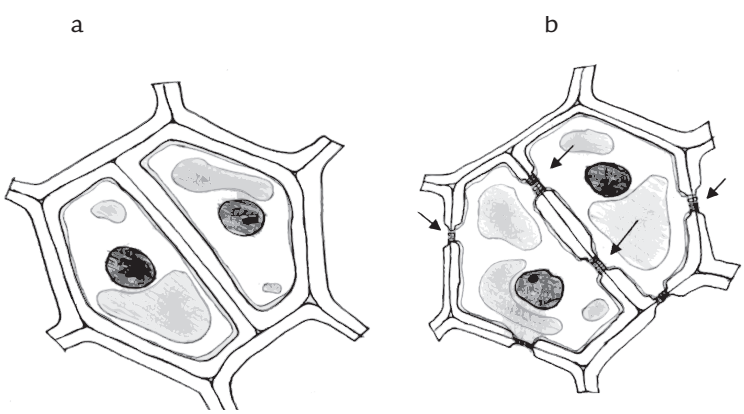
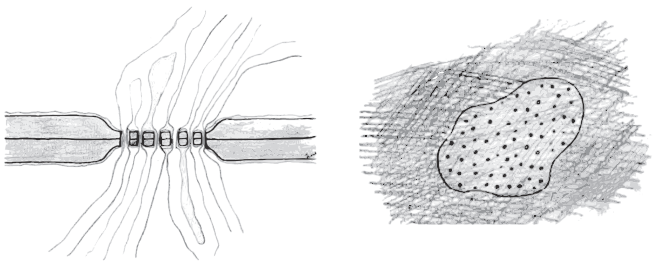


Figura 4 – Diagrama mostrando células recém-divididas. As células adjacentes são representadas pelas respectivas frações de parede. Em (a), a comunicação entre protoplastos não foi representada, enquanto que em (b) os campos de pontoação primários (setas) permitem a conexão (via plasmodesmos) entre protoplastos adjacentes. Veja que a lamela mediana serve de cimento entre as células e nos permite individualizar determinada célula, como demonstrado em (a)

Para compreendermos os plasmodesmos, é interessante partirmos de sua formação, o que geralmente ocorre por ocasião da citocinese. Veja que na Figura 1, antes da citocinese, as organelas são comuns às duas futuras células. Durante a formação da placa celular, segmentos do retículo endoplasmático (RE), concentrados em determinadas regiões e dispostos perpendicularmente à placa, são interceptados por ocasião da formação da placa celular, atravessando-a. Assim, a nova parede celular ficará interrompida pelos segmentos do RE. Essas áreas de parede, em que estão concentrados esses segmentos de RE, são mais delgadas e recebem o nome de campo de pontoação primário. Cada um desses campos é uma área de formato, aproximadamente, circular e apresenta diversos plasmodesmos. Uma célula pode ter milhares de plasmodesmos, distribuídos em vários campos de pontoação (ver figuras 5 e 6).



a b

Figura 5 – Diagramas mostrando um campo de pontoação primário, visto em corte transversal (a) e vista frontal (b). Observe em (a) os segmentos de retículo endoplasmático atravessando a parede

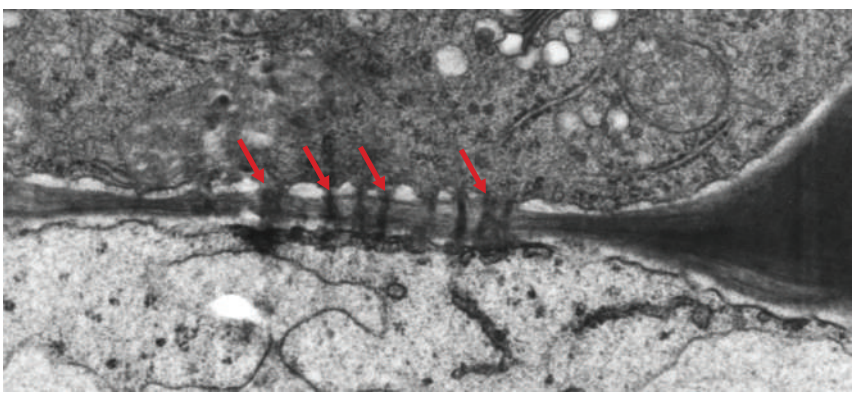


Figura 6 – Detalhe de campo de pontoação primário visto em corte ao microscópio eletrônico de transmissão. Observe a presença de plasmodesmos (setas)

Ora, se as células são unidas umas às outras pela lamela mediana e os protoplastos estão ligados pelos plasmodesmos, então é fácil entender que toda a matéria viva de uma planta, envolta pela membrana plasmática, forma um conjunto, uma só estrutura – o **simplasto** ou protoplasma. Vamos, agora, fazer um exercício de imaginação um tanto diferente: imagine uma árvore e retire de uma

das células o protoplasto. Agora, imagine esse protoplasto ligado à célula vizinha e continue puxando... Assim, embora de modo abstrato, você poderia remover toda a matéria viva, ou seja, todo o protoplasma ou simplasto. E a árvore, o que restou dela? Pois bem, removido o material envolto por membrana, restaram as paredes celulares, o lume (o espaço interno da célula, onde está o protoplasto) das células e os espaços intercelulares – a esse conjunto denominamos **apoplasto**.

Os espaços intercelulares são importantes para o vegetal e, ao contrário do que observamos em animais, eles não são preenchidos por matriz extracelular, são espaços vazios e formam um amplo e comunicante sistema que permite a circulação de gases (ver Figura 7). É também por meio desses espaços que a água e os minerais nela dissolvidos são distribuídos, desde as células condutoras do xilema até as células mais afastadas do sistema vascular. Pense na relação existente entre a ausência de um sistema circulatório com moléculas capazes de levar oxigênio a cada célula do corpo da planta e a presença desses espaços intercelulares... Isso mesmo, o ar que entra por meio dos estômatos difunde-se pelo corpo vegetal distribuindo o O_2 e CO_2, necessários a respiração e fotossíntese, respectivamente.

Antes da expansão celular, o formato cúbico e o pequeno volume das células proporcionam um contato intenso entre células adjacentes, e os espaços intercelulares são praticamente inexistentes. A formação desses espaços é resultante da expansão celular, quando as células se afastam umas das outras. Espaços intercelulares também podem se formar por meio da morte celular, seguida da degradação da parede; assim, o local, antes ocupado pela célula, constituirá um espaço intercelular. No primeiro caso, a origem é dita *esquizógena*, enquanto no último é *lisígena*.

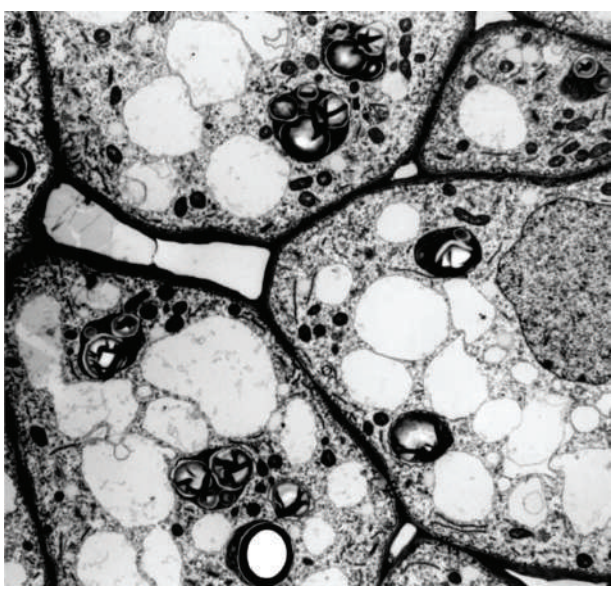


Figura 7 – Células de parênquima vistas ao microscópio eletrônico de transmissão, mostrando a parede primária e espaços intercelulares. Observe a grande quantidade de vacúolos (áreas claras dentro das células)

Após a expansão, a célula, geralmente, conclui o processo de diferenciação, atingindo a forma e o tamanho que a acompanharão ao longo da vida. Essa alteração de tamanho e forma é possível graças à plasticidade da parede celular primária. Muitos tecidos vegetais e seus respectivos tipos celulares são caracterizados por apresentarem apenas a lamela mediana e a parede primária; geralmente, esses tecidos são mais tenros e a parede celular é relativamente delgada. Por outro lado, algumas células, ou mesmo tecidos, apresentam mais uma camada de parede, a qual denominamos parede secundária. A parede secundária confere maior resistência, por ser mais rica em celulose, e agregar compostos que aumentam sua rigidez. Esse aumento de resistência tem como vantagem auxiliar na função de sustentação, mas traz o preço de não permitir a mudança de forma ou tamanho, ou seja, a parede secundária não é plástica. Então fica fácil compreender que a parede secundária, na maioria absoluta dos casos, é formada após a expansão da parede primária, isto é, após a célula tomar sua forma final. Durante a deposição da parede secundária, os campos de pontoação primários são respeitados e a conexão citoplasmática por meio dos plasmodesmos persiste. Assim, um campo de pontoação primário mais a interrupção da parede secundária sobre ele passam a ser denominados pontoação; evidentemente, só ocorrem pontoações em células que exibem parede secundária (ver Figura 8).

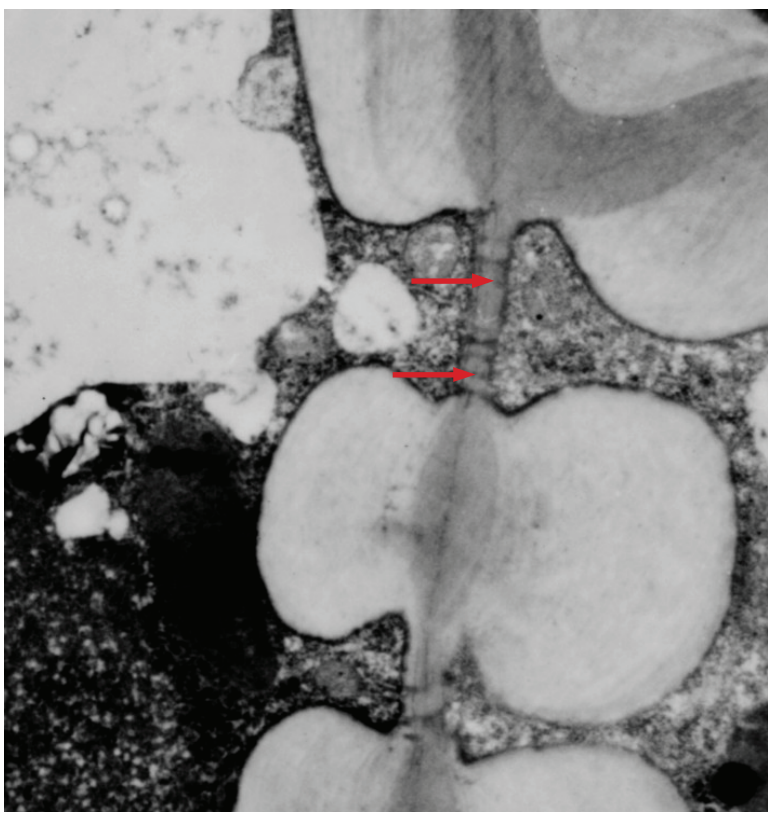


Figura 8 – Detalhe de uma secção transversal da parede celular secundária, mostrando pontoações, nas quais são observados os plasmodesmos (setas)

AUTOAVALIAÇÃO

- Protoplasto de célula vegetal e célula animal são análogos? Discuta.
- Qual é a relação entre membrana plasmática e síntese de celulose?
- O que é fragmoplasto? E qual a sua função?
- O que determina a posição dos futuros campos de pontoação primários durante a citocinese e a formação da parede celular?
- Quais as funções dos microtúbulos durante a citocinese e a formação da parede celular?
- Quais as principais diferenças entre parede primária e secundária?
- Qual a composição e principal função da lamela mediana?

AULA 5

Citoesqueleto

Gleydes Gambogi Parreira
Gleide Fernandes de Avelar
Élder Antônio Sousa e Paiva

Objetivos
- Conhecer a arquitetura celular.
- Conhecer as diferentes funções dos filamentos.

INTRODUÇÃO

Vamos analisar a estrutura do nosso corpo! Podemos perceber que somos constituídos por tecidos moles (músculos e vísceras), por um tecido rígido, os ossos, que formam o esqueleto, e por um tecido que os articulam, as cartilagens. E quais são as funções do nosso esqueleto? Se você responder "dar sustentação aos tecidos moles, mantendo a forma do corpo, e, ainda, que é fundamental para que possamos nos movimentar", acertou!

Se considerarmos ser essa uma boa definição para esqueleto, podemos seguir em frente e perceber que nossos órgãos também têm um "esqueleto", este constituído por *células* especializadas que permitem ao órgão exercer sua função, chamado *parênquima*, e um outro tecido, igualmente importante, que o sustenta, o *estroma*.

Agora, imaginemos: se em dimensões maiores essa organização persiste, será que ela se repete dentro da célula? Podem acreditar que sim!

Já vimos em aulas anteriores que a célula é envolvida por uma membrana e que seu conteúdo tem uma consistência gelatinosa. Mas quando nos deparamos com a imagem de uma célula, vemos uma estrutura bem delimitada, com contornos definidos. Além disso, devemos nos lembrar que existem células com grandes prolongamentos, como é o caso dos neurônios, que têm uma movimentação intensa de vesículas em seu interior. Vamos aprender, mais à frente, que também o núcleo e as organelas estão quase sempre posicionados em uma mesma região nos variados tipos celulares.

Essa ideia de sustentação das organelas e de movimentação, estabelecimento e manutenção da forma da célula nos remete ao conceito inicial de *esqueleto*, cuja existência é demonstrada através de diferentes estudos.

Antes de seguirmos em diante, devemos lembrá-los que a observação dos detalhes estruturais dos componentes do citoesqueleto não é possível por meio das técnicas histológicas e histoquímicas tradicionais. Na realidade, apenas a microscopia eletrônica de transmissão, de varredura, confocal, imunofluorescência etc., são capazes de mostrar os elementos do citoesqueleto. As micrografias eletrônicas disponíveis estão anexadas junto ao nosso texto, por isso aproveitem para fazer o estudo prático com a sua leitura! Vamos em frente com a classificação!

CLASSIFICAÇÃO

E como seriam os "ossos" desse citoesqueleto?

Como é sua organização?

As *proteínas* são as unidades básicas do citoesqueleto. Variam quanto a sua composição e função e se organizam em filamentos, que são estruturas cilíndricas de diâmetros variados que se distribuem de diversas formas nos diferentes tipos celulares. É importante neste momento lembrar da unidade de medida empregada para o citoesqueleto – o nanômetro (nm), que é a milésima parte do micrômetro (μm). Lembrem-se que o micrômetro é a milésima parte do milímetro!

Podemos classificar os elementos do citoesqueleto em três grandes grupos, como no esquema a seguir:

1 – Filamentos citoplasmáticos

Finos – 5nm de diâmetro – Exemplo: actina.

Intermediários – 10nm de diâmetro – Exemplo: tonofilamentos (presentes nos epitélios); neurofilamentos (presentes nos neurônios) etc.

Espessos – 15nm de diâmetro – Exemplo: miosina.

2 – Microtúbulos

Finos – 25nm de diâmetro – Ex: tubulina.

3 – Proteínas associadas – esse grupo de proteínas é bem variável, sendo classificadas pela função que exercem quando associadas a outras proteínas

Motoras – são responsáveis pela movimentação de organelas e vesículas dentro das células. Essas proteínas motoras se associam a outros elementos do citoesqueleto

Acopladas – as dineínas e cinesinas produzem deslocamento quando associadas com microtúbulos e são muito importantes para o trânsito intracelular de vesículas.

Cabe salientar que, com o crescimento da Biologia Celular e Molecular, estamos sempre frente a novas proteínas. Por isso, não se surpreendam se encontrarem novas proteínas descritas por aí em bibliografias! Por enquanto, vamos nos ater àquelas que conhecemos com algum detalhamento e nos serão úteis no estudo da Biologia Celular e dos Sistemas Funcionais.

Filamentos citoplasmáticos

Filamentos finos – Microfilamentos de actina

Vamos começar nosso estudo a partir da descrição da actina, estrutura de menor diâmetro, ou seja, entre 5 e 7nm de diâmetro. Quando ativos, isto é, na forma polimerizada, os filamentos de actina apresentam-se como polímeros helicoidais de duas cadeias, flexíveis e dinâmicos, organizados na forma de feixes lineares, a actina F (Figura 1a), em redes bidimensionais e géis tridimensionais. Quando despolimerizados, apresentam-se como monômeros de actina livres no citoplasma na forma globular, a actina G (Figura 1b). Esses filamentos são os que possuem duas extremidades diferentes – uma "positiva", que possui um crescimento rápido, e uma "negativa", relativamente inerte. O processo de polimerização gasta energia (ATP) e íons como K^+ ou Mg^+. Quando os íons são adicionados aos monômeros de actina na presença de ATP, ocorre o aumento dos filamentos. O controle da associação dos monômeros depende de várias proteínas que se ligam à actina, chamadas proteínas associadas. O esquema de montagem está representado na Figura 1.

Funcionalmente, esses filamentos têm uma grande variedade de atividades. Entre elas, citamos a formação do eixo central das microvilosidades, presentes em células secretoras e absortivas, dando sustentação para essas especializações de membrana. Além disso, ela é importante para os movimentos celulares, podendo constituir as *estruturas lábeis* ou *estáveis*, que podem, eventualmente, participar de movimentos intracelulares.

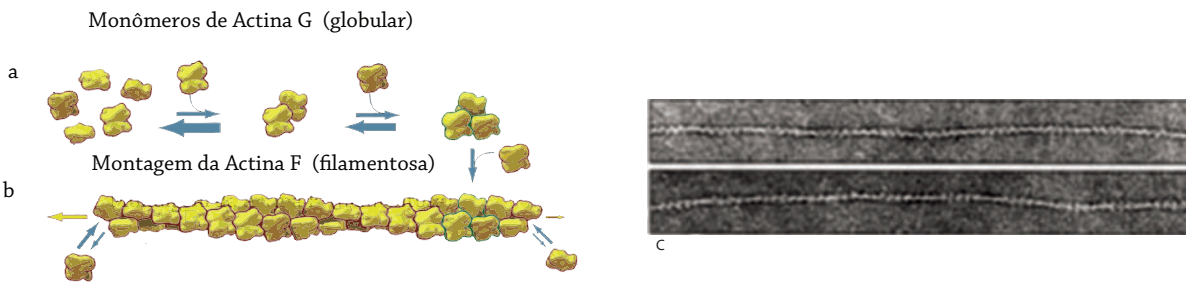


Figura 1 – Sequência de polimerização do filamento de actina. a) actina G – monômeros que se unem nas extremidades terminais; b) actina F – filamentos de actina polimerizados e funcionais; c) filamento F de actina visto à microscopia eletrônica de transmissão

Filamentos intermediários

Com diâmetro médio em torno de 10nm (Figura 2), pode-se considerar que são específicos para cada tipo celular, ou seja, adéquam suas funções de acordo com a célula. São formados a partir de unidades menores que se enrolam em α-hélice, que por sua vez se associam para formar protofilamentos (3nm de diâmetro). Esses se associam e formam protofibrilas (4 a 5nm). Várias delas se associam (polimerizam), e finalmente temos a constituição do filamento intermediário. Veja este arranjo no esquema a seguir:

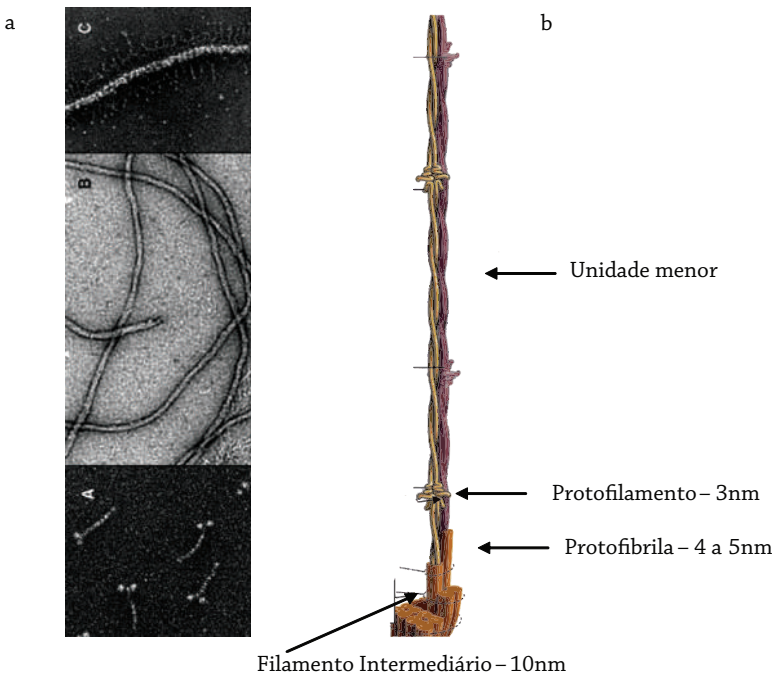


Figura 2 – Formação dos filamentos intermediários. a) fotos de filamentos intermediários vistos à microscopia eletrônica; b) desenho esquemático da formação dos filamentos intermediários, desde a unidade menor até a constituição completa do filamento de 10nm

Dentre o grupo dos elementos do citoesqueleto, os filamentos intermediários são os únicos considerados estáveis, exercendo funções de sustentação, sem, contudo, participar de movimentos celulares. Em função dessa estabilidade, são fundamentais para a formação, junto com os microfilamentos, dos diferentes tipos de junções que mantêm as células unidas umas às outras ou à membrana basal e, por consequência, ao tecido conjuntivo adjacente.

Suas proteínas se agregam espontaneamente, sem gasto de energia, e se espalham por todo o citoplasma.

Podemos listar algumas das diferentes funções relacionadas aos filamentos intermediários:

1 – Têm grande resistência à tração – capacitam as células a receberem tensão – tonofilamentos (desmossomos) (Figuras 3a e 3b);

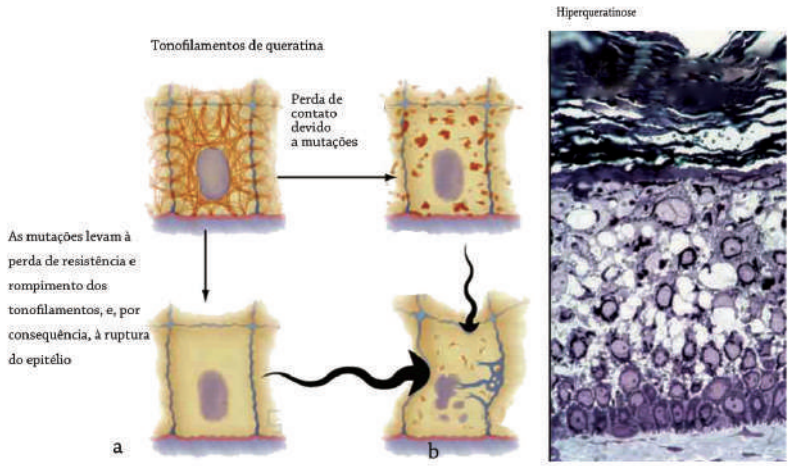


Figura 3 – a) Desenho esquemático da distribuição dos tonofilamentos no tecido epitelial; b) foto ilustrativa do epitélio rompido devido à perda de resistência dos tonofilamentos

2 – Formam uma rede em volta do núcleo e vão até a membrana, dando a eles estabilidade (Figura 4);

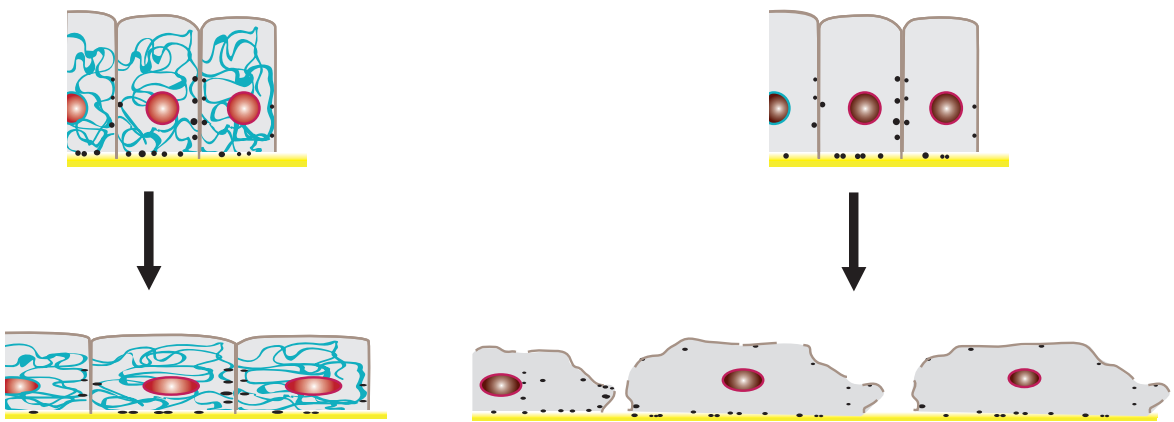
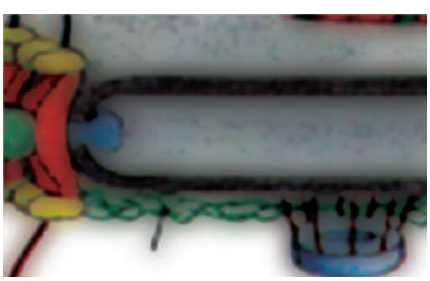


Figura 4a – Esquema dos filamentos intermediários (em azul) ao redor do núcleo e projetados para a membrana

3 – Participam da formação da lâmina nuclear (lamins), que dão estabilidade à membrana nuclear e à heterocromatina;



4 – São importantes no fluxo axonal – transporte de moléculas ao longo do axônio.

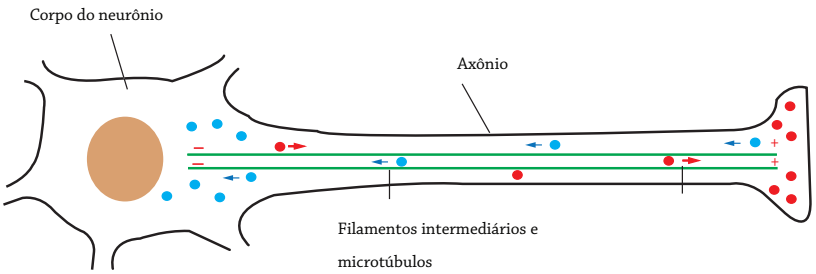


Figura 4b – Filamentos alinhados ao longo do corpo do axónio e servem como apoio para o transporte de moléculas

Filamentos espessos – Miosina

Completando nosso estudo sobre os filamentos citoplasmáticos, vamos discutir um pouco sobre a miosina, a principal representante dos filamentos espessos. Medindo em torno de 15nm de diâmetro, a miosina é reconhecida por suas duas porções: porção globular (ATPásica- enzima que metaboliza o ATP) e a porção linear.

Estruturalmente, a porção globular da miosina é uma proteína formada por duas cadeias polipeptídicas pesadas e quatro leves; as duas cadeias pesadas possuem uma estrutura globular em suas extremidades, denominada *cabeça da miosina*, e formam uma dupla hélice, deixando as cabeças livres na extremidade. As quatro cadeias leves se localizam na cabeça da miosina, duas em cada cabeça. Os corpos das moléculas de miosina formam a cauda do filamento grosso e dela saem proeminências da porção helicoidal da molécula, mantendo a cabeça longe do corpo: é o braço da molécula. O conjunto formado chama-se ponte cruzada (Figura 5). Nas figuras abaixo, chamamos a atenção para a Figura 5b, em que se exibe o detalhe do sítio de ligação para o ATP. Como veremos abaixo, a cabeça da miosina é a responsável pelo movimento de conexão e movimento com outras proteínas, e, para isso, utiliza-se da hidrólise do ATP, que gera energia para esses movimentos.

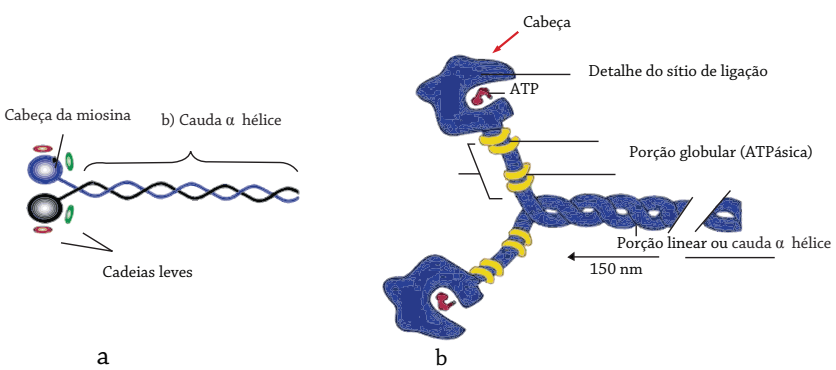


Figura 5 – Desenho esquemático da molécula de miosina. a) Porção globular = cabeça da miosina (cadeias pesadas e cadeias leves); b) cauda α-hélice

Já existem alguns tipos de miosina descritos na literatura. Ficaremos restritos ao tipo II. Essa proteína motora hidroliza ATP (Figura 6) para executar movimentos ao longo dos filamentos de actina. A miosina II é uma proteína muito grande e forma os filamentos espessos do músculo esquelético, que deslizam sobre os filamentos de actina, encurtando o sarcômero durante a contração. Voltaremos a discutir o processo de contração oportunamente, quando estudarmos o Tecido Muscular. A miosina do tipo I é menor, com maior distribuição, e não forma filamentos; normalmente está associada à membrana e, por exemplo, ao transporte intracelular de moléculas.

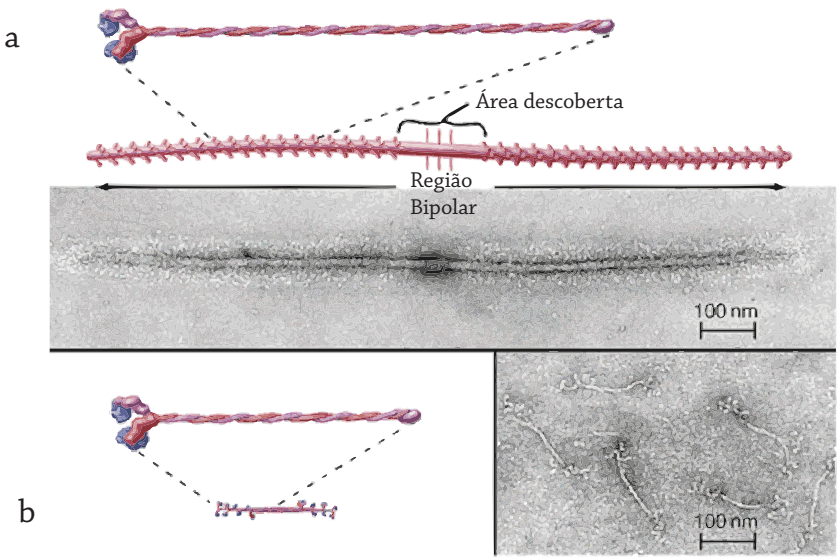


Figura 6 – Filamentos de miosina. a) Desenho esquemático da molécula mostrando detalhe da disposição da molécula simples e de moléculas associadas para formar o filamento espesso; abaixo do esquema observa-se o filamento visto ao micrsocópio eletrônico; b) esquema da molécula isolada e, à sua direita, vista ao microscópio eletrônico

Microtúbulos

Continuando nossa viagem pelos elementos do citoesqueleto, vamos conhecer agora os microtúbulos, filamentos cilíndricos delgados e longos (com 25nm de diâmetro). A unidade estrutural dos microtúbulos é representada por dímeros de *tubulina* α (alfa) e β (beta). Esses dímeros se alinham de maneira linear, formando os protofilamentos. Para a composição dos microtúbulos, são necessários 13 protofilamentos que, ao se posicionarem lado a lado, formam uma estrutura cilíndrica e oca. Ao processo de montagem e de desmontagem de tubulinas dá-se o nome de polimerização e despolimerização, respectivamente. O esquema de formação dos microtúbulos está na figura a seguir.

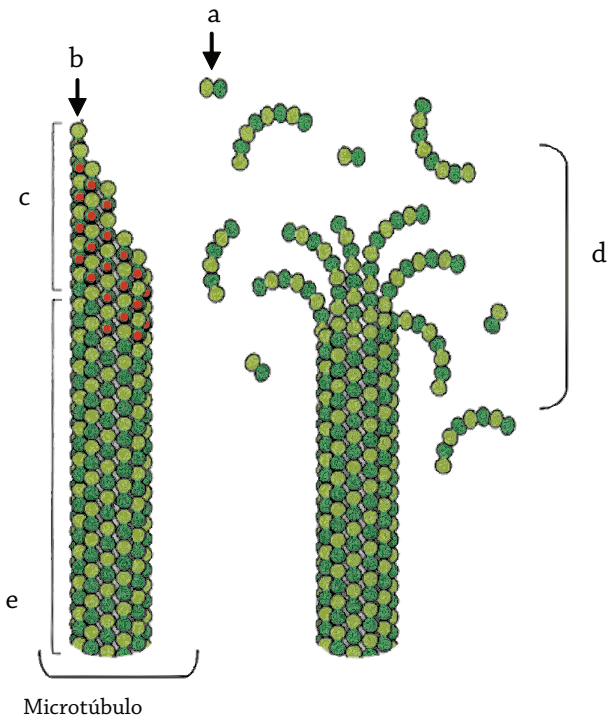


Figura 7 – Desenho esquemático dos microtúbulos. O esquema da esquerda representa a polimerização dos microtúbulos e o da direita representa a despolimerização. a) dímeros de tubulinas α e β; b) protofilamento; c) face de polimerização; d) face de despolimerização de tubulinas; e) microtúbulo – arranjo de 13 protofilamentos

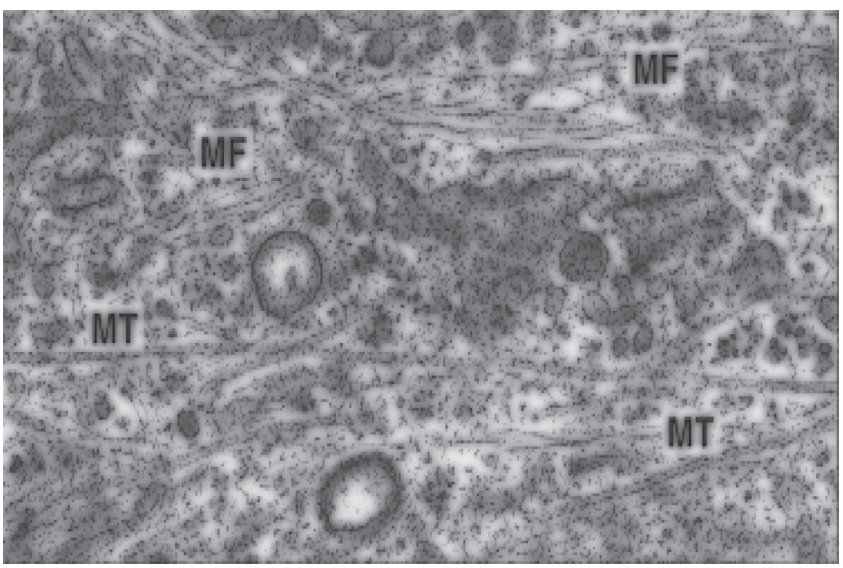


Figura 8 – Micrografia eletrônica do citoplasma de uma célula exibindo microtúbulos (MT) e filamentos de actina (MF)

Organização dos microtúbulos

Normalmente, os microtúbulos são estruturas dinâmicas, isto é, eles mudam de tamanho conforme a necessidade da célula. Por exemplo, quando a célula vai se dividir, forma-se o fuso mitótico, constituído de microtúbulos que se ligam aos cromossomos na região dos centrômeros. No momento da anáfase, ocorre a redução dos microtúbulos, permitindo que os cromossomos migrem para cada uma das células-filhas (Figura 9).

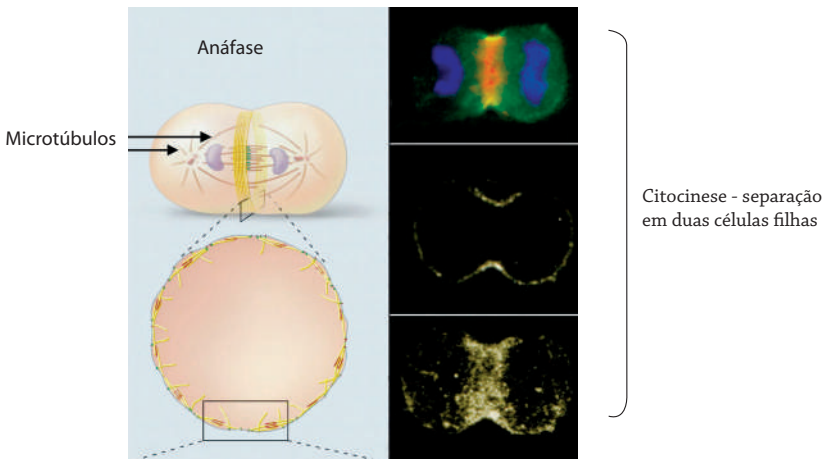


Figura 9 – Desenho esquemático da etapa de anáfase (mitose). Observam-se os microtúbulos do fuso mitótico e dos microtúbulos radiais

E como esses microtúbulos alteram de tamanho? Primeiramente, devemos compreender que existe um equilíbrio entre a quantidade de microtúbulos e de tubulinas livres e que a montagem dos microtúbulos é favorecida pela presença de enzimas dependentes de AMP cíclico, GTP e de baixa concentração de cálcio. Outra particularidade é que a agregação de subunidades de tubulinas acontece em apenas uma das extremidades dessa estrutura e que no polo oposto ocorre a desmontagem dos microtúbulos. Existem drogas que são capazes de parar o crescimento microtubular por inibir um ou outro processo. Funcionalmente, podemos citar o exemplo da colchicina, uma droga que é capaz de se ligar à tubulina na extremidade de polimerização, impedindo que novos dímeros se associem. A importância do uso dessas drogas está associada por exemplo, a tratamentos de repressão da divisão celular, como nos tratamentos de tumores.

Até o momento, comentamos sobre a forma de organização dos microtúbulos em **estruturas instáveis** ou **lábeis**. Essas estruturas são também capazes de se organizar também na forma de **estruturas estáveis**, que se projetam das células, como os **cílios** e **flagelos,** ou, ainda, se organizar para formar os **centríolos** e os **corpúsculos basais**.

Quando organizados em cílios e flagelos, eles exibem o chamado **padrão axonêmico (= 9 + 2)**, ou seja, nove pares de microtúbulos periféricos ao redor de dois microtúbulos centrais (Figura 9). Ambos se projetam para o meio extracelular e constituem o elemento fundamental da motilidade dessas estruturas. Além das **tubulinas**, que compõem estruturalmente os microtúbulos, os cílios e/ou flagelos são compostos de outras proteínas estruturais, as **radiais** e a **nexina**, e de proteínas responsáveis pelo movimento, dentre as quais citamos a **dineína,** responsável pelas funções energética e de motilidade.

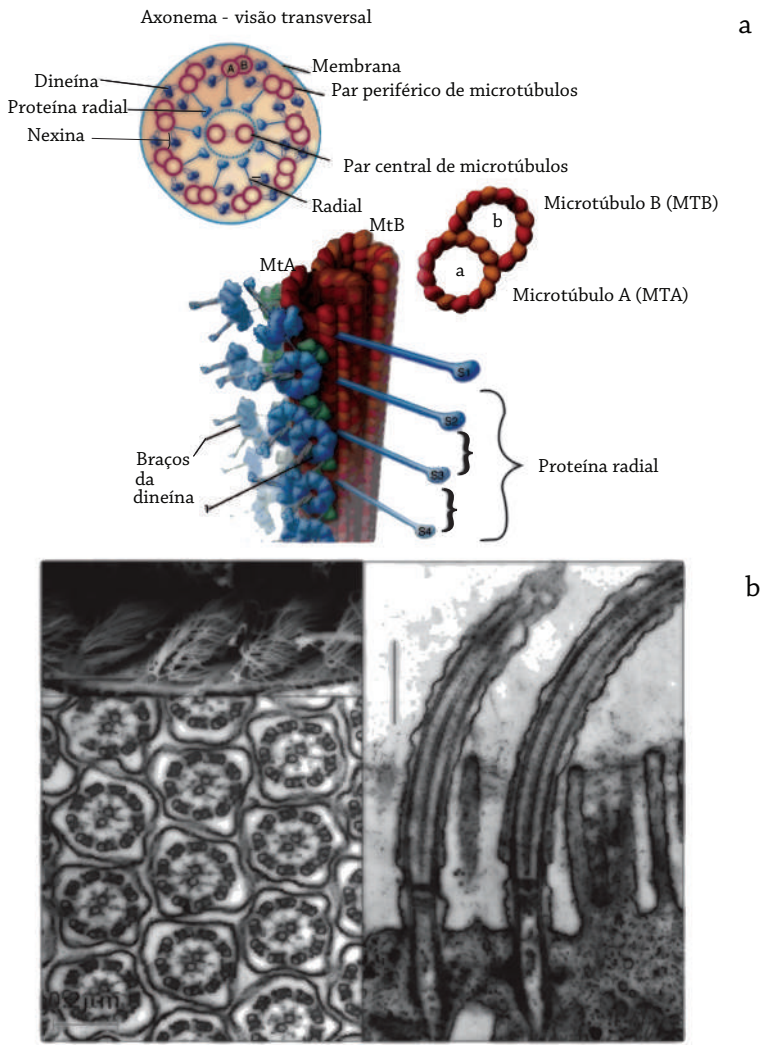


Figura 10 – a) Desenho esquemático da constituição dos cílios e flagelos; b) Cortes transversais e longitudinais, respectivamente, dos cílios vistos ao microscópio eletrônico de transmissão

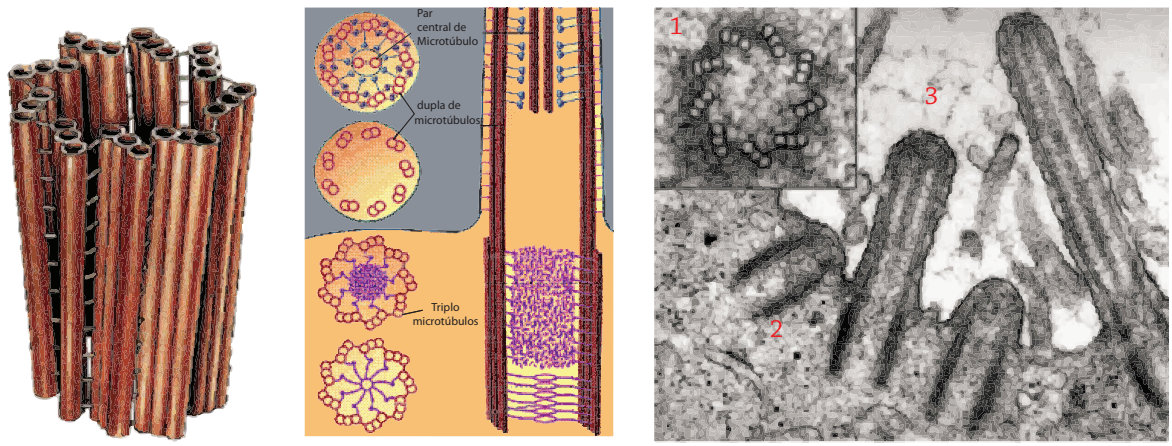
Flagelos

É importante lembrar que a estrutura do axonema constitui também o flagelo, componente imprescindível para a locomoção dos espermatozoides. Podemos ir um pouco além e comentar que deformações

da proteína *dineína*, por exemplo, levam à infertilidade masculina, quando tratamos dos flagelos. Já para o caso de cílios, componente importante das vias respiratórias, a ausência da dineína caracteriza quadros de infecções respiratórias frequentes.

Centríolos e corpúsculos basais (CB)

Também classificados como estruturas estáveis, os centríolos e os corpúsculos basais têm as tubulinas como proteínas principais, formando os microtúbulos, que, nesse caso, organizam-se em nove trincas periféricas (Figura 11). Os primeiros prestam-se às funções de divisão celular, que serão tratadas quando formos falar sobre o núcleo; e os corpúsculos basais estão localizados na superfície apical das células ciliadas e originam os cílios. Nas Figuras 10b e 10c, observam-se a formação dos cílios a partir microtúbulos dos corpúsculos basais.



a b c

Figura 11 – Centríolo e corpúsculo basal. a) e b) desenho esquemático do centríolo, com tríades periféricas de microtúbulos; c) 1 – centríolo, 2 – corpúsculo basal e 3 – cílios, vistos ao microscópio eletrônico de transmissão

Nas células vegetais, a parede celular confere rigidez e serve, de certo modo, como citoesqueleto. Entretanto, a matriz citoplasmática é ainda mais fluida que nas células animais, e o citoesqueleto, composto por microtúbulos e microfilamentos, é fundamental para permitir sustentação à movimentação de organelas. Outras funções do citoesqueleto em células vegetais são, por exemplo, a formação do fuso mitótico e do fragmoplasto, por ocasião da citocinese (ver Aula 4).

AUTOAVALIAÇÃO

- Que estruturas você reconhece como esqueleto da célula?
- Monte estes elementos dentro de um diagrama, considerando:
  - tamanho
  - funções
  - diferenças proteicas
- Diferencie o caráter instável e estável dos elementos do citoesqueleto.

AULA 6

Especializações da membrana plasmática e junções

Valéria Ruiz de Souza
Élder Antônio Sousa e Paiva

Objetivos

- Conhecer as especializações da membrana plasmática.
- Compreender a relação entre essas especializações e o citoesqueleto.
- Conhecer as estruturas juncionais que permitem a adesão entre as células, e dessas com a matriz extracelular.
- Aprender sobre as junções que permitem a comunicação entre as células.
- Conhecer as junções de oclusão e sua relação com a propriedade dos epitélios de separar compartimentos corporais.

AS ESPECIALIZAÇÕES DA MEMBRANA E SUA DISTRIBUIÇÃO NO CORPO

A membrana plasmática é a interface da célula com as demais células e com a matriz extracelular. É por meio da membrana que a célula absorverá nutrientes, receberá estímulos para sintetizar ou degradar substâncias, se movimentar, se contrair, se diferenciar, se dividir, ou até morrer.

Algumas regiões da membrana das células, em associação com componentes do citoesqueleto, podem se projetar para além do plano médio da membrana, ou, ao contrário, se projetar para o interior da célula. Em células móveis, como os macrófagos ou amebas, os pseudópodes são projeções da membrana que interagem com a matriz extracelular e desencadeiam alterações no citoesqueleto, que resultarão na movimentação de organelas e do núcleo na direção do movimento. Ao mesmo tempo, a membrana do lado oposto ao deslocamento se desliga da matriz, permitindo, assim, a locomoção da célula sobre seu meio.

Em tecidos epiteliais, especializações bem mais duradouras da membrana das células conferem propriedades especiais a esses tecidos. Quando atribuímos uma função a um epitélio, como a

filtração de partículas do ar nas vias respiratórias, estamos, na verdade, falando de especializações das células que formam esse epitélio o qual permite essa função. O epitélio que reveste as vias respiratórias superiores é ciliado. Como veremos a seguir, os cílios são prolongamentos da membrana plasmática capazes de realizar movimentos oscilatórios. No intestino delgado, em que a absorção de nutrientes é máxima, além de revestir as vilosidades, que são projeções da mucosa intestinal em direção ao lume, o epitélio apresenta **microvilosidades**, que amplificam bastante a superfície apical de absorção de cada célula. Outros tecidos, como o músculo cardíaco, apresentam interdigitações entre as células, que aumentam, consideravelmente, a superfície de contato celular e onde estruturas juncionais prendem firmemente as células entre si. Mostraremos, a seguir, as principais **especializações da membrana** de células animais, que serão classificadas em apicais, basais e laterais, estas típicas de células vizinhas, presentes, principalmente, nos epitélios, nos músculos e no tecido nervoso.

ESPECIALIZAÇÕES APICAIS

Microvilosidades e estereocílios

As microvilosidades são projeções da membrana plasmática em direção ao lume de um órgão oco, sustentadas por microfilamentos de actina (Figura 1). Elas estão presentes em maior número nas células absortivas intestinais, os enterócitos. As microvilosidades aumentam bastante a superfície celular, podendo amplificar, consideravelmente, a expressão de receptores para nutrientes nessa região da célula. Para se ter uma ideia, se cada enterócito "sem microvilosidades" tem, aproximadamente, 40μm^2 apical, vamos calcular a superfície de um enterócito com 150 microvilosidades. Cada uma delas seria um cilindro de aproximadamente 0,2μm de diâmetro e 1μm de altura, cada uma teria a superfície de 2mm. Isto é, a superfície da célula será ampliada 150 vezes. As enzimas, como as dissacaridases e dipeptidases, que completam a digestão, e moléculas transportadoras de lipídios, açúcares e proteínas, são expressas nas microvilosidades intestinais.

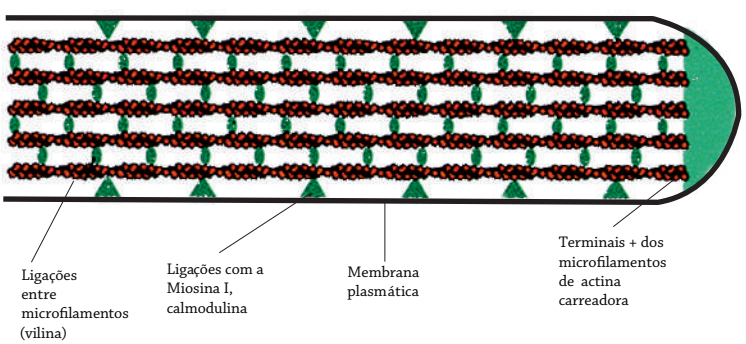


Figura 1 – Esquema da estrutura de uma microvilosidade com microfilamentos de actina e proteínas associadas

As microvilosidades podem se alongar ou se encurtar, mas não apresentam movimentos ondulatórios, como os **cílios**. O que possibilita esse movimento é a interação da miosina, que se associa à membrana plasmática, ou de organelas, e, por meio de outro domínio, aos microfilamentos de actina. Os microfilamentos que sustentam as microvilosidades se apoiam na malha cortical de actina, que, por sua vez, se conecta ao complexo juncional. A presença de microvilosidades na região apical do enterócito faz parte do processo de polarização da célula (Figura 2).



Figura 2 – Micrografias eletrônicas de microvilosidades em corte longitudinal, transversal e detalhe do glicocálice nas extremidades das microvilosidades

Os estereocílios são semelhantes às microvilosidades e estão presentes em células, nos ductos do aparelho genital masculino, como o epidídimo (Figura 3). Eles são prolongamentos da membrana, também sustentados por microfilamentos de actina, que são mais longos e ramificados em diferentes direções, e parecem cílios, daí seu nome. Eles aumentam a superfície de troca entre a luz dos ductos e o corpo, proporcionando a absorção de água e de outras moléculas.

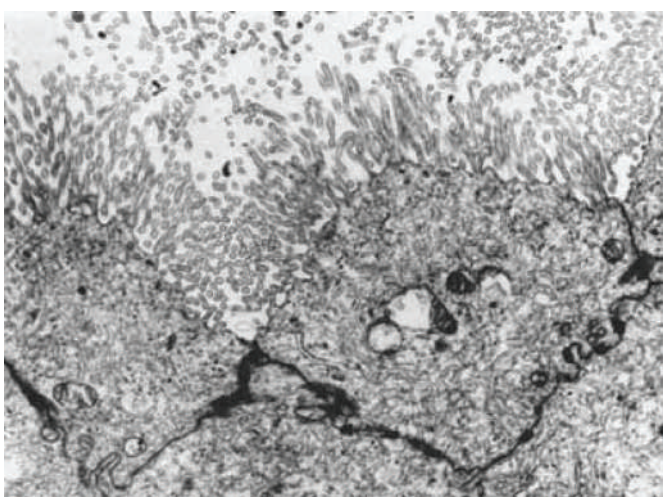


Figura 3 – Estereocílios das células epiteliais do epidídimo

Fonte – JUNQUEIRA; CARNEIRO (1999).

Cílios e flagelos

Os cílios e os flagelos também são projeções da membrana plasmática, cujas morfologias foram discutidas na aula sobre citoesqueleto. Por essa razão, não trataremos do assunto com detalhes. No entanto, é importante lembrar que são estruturas longas, sustentadas por microtúbulos, estes organizados como **axonemas** (Figura 4). Essa associação responde pela função de movimentos ondulatórios dessas estruturas.

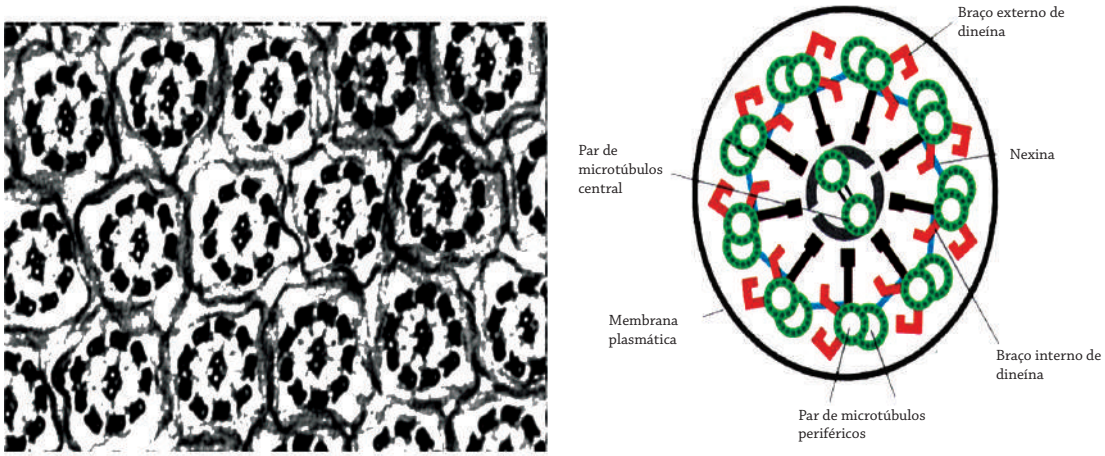
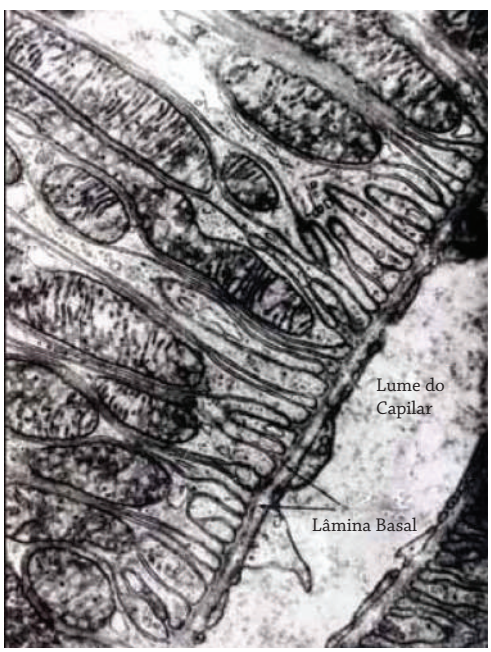


Figura 4 – Micrografia eletrônica de cílios cortados transversalmente e esquema de axonema com proteínas associadas

ESPECIALIZAÇÕES BASAIS

Pregas basais, interdigitações



Se, em vez de se projetar, a membrana plasmática é puxada em direção ao interior da célula pelo citoesqueleto, poderemos ter as **pregas basais**, como nos túbulos renais, ou o sistema de túbulos T nas células dos músculos estriados. Essas especializações permitem a aproximação da membrana plasmática com organelas, como as mitocôndrias e o retículo sarcoplasmático, acelerando a sinalização entre meio, membrana e interior da célula (Figura 5).

Figura 5 – Pregas basais associadas a mitocôndrias em células do túbulo proximal do rim

Especializações da membrana plasmática, como as **interdigitações,** presentes em epitélios e células do músculo estriado cardíaco, promovem o aumento de superfície, que fortalecem a adesão entre células por desmossomas fortemente ancorados em filamentos intermediários do citoesqueleto (Figura 6). Na Figura 7 observamos especializações de membrana determinando o aspecto funcional celular.

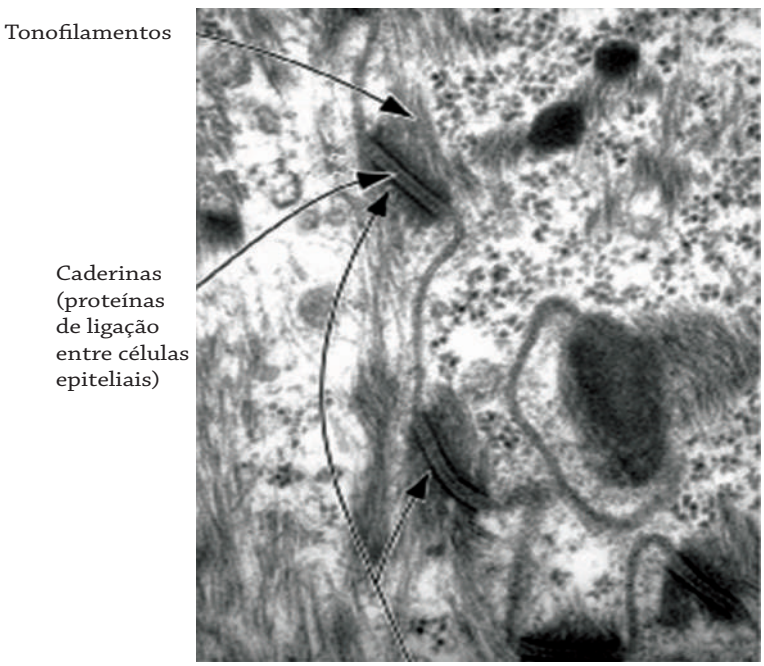


Figura 6 – Interdigitações ancoradas por desmossomos em células epiteliais

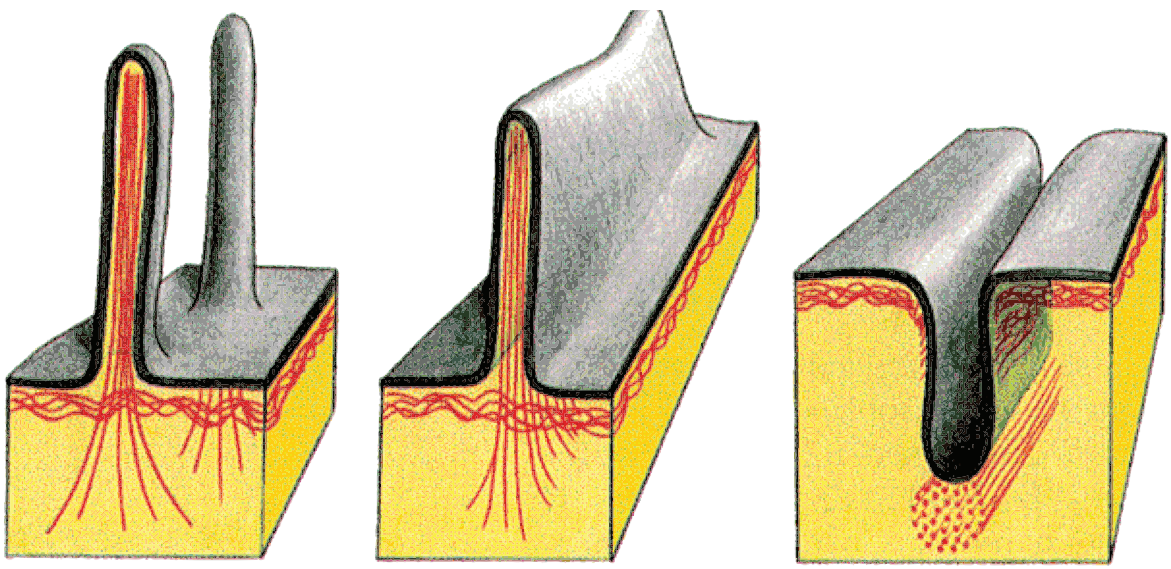


Figura 7 – Algumas especializações da membrana e sua associação com a trama terminal de microfilamentos de actina

Vocês verão, a seguir, como as especializações da membrana se relacionam com as junções entre células e matriz extracelular e os elementos do citoesqueleto.

ESPECIALIZAÇÕES LATERAIS

O complexo juncional: zônula ou zona de oclusão, zônula ou zona de adesão e desmossomas

O complexo juncional ou unitivo é uma estrutura presente na região apical das células epiteliais, responsável pela adesão entre as células, pela separação efetiva dos compartimentos afastados pelo epitélio e pela polaridade celular, que é construída a partir da adesão celular em células adjacentes. O complexo juncional é formado pela **zônula de oclusão**, pelo cinturão ou **zônula de adesão**, e por desmossomas, nessa ordem, da região mais apical para a basal da célula (Figura 8).

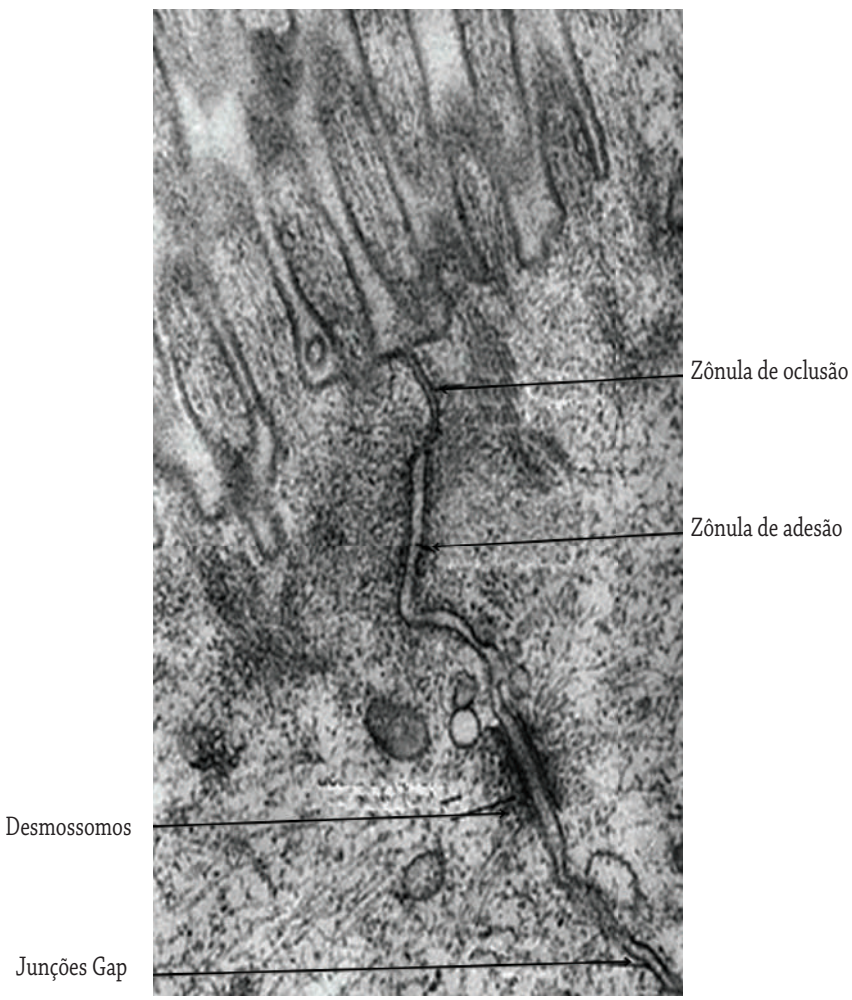


Figura 8 – Complexo juncional entre células absortivas intestinais

A **zônula de oclusão** é uma rede formada por proteínas transmembranares, as ocludinas, que se agregam por meio de suas porções intracitoplasmáticas e se entrelaçam em sua porção extracitoplasmática com as ocludinas da célula vizinha. Essa estrutura juncional, cuja função é vedar a passagem de substâncias por entre as células, é contínua em torno da célula. Sua presença determina que a célula epitelial é a que selecionará as substâncias que passarão da luz do intestino, ou do vaso sanguíneo, para dentro da célula e para o interior do corpo.

A Figura 9 mostra a **zônula de oclusão** na célula absortiva intestinal e o esquema suposto para a trama de ocludina, que forma a rede de vedação entre os dois compartimentos.

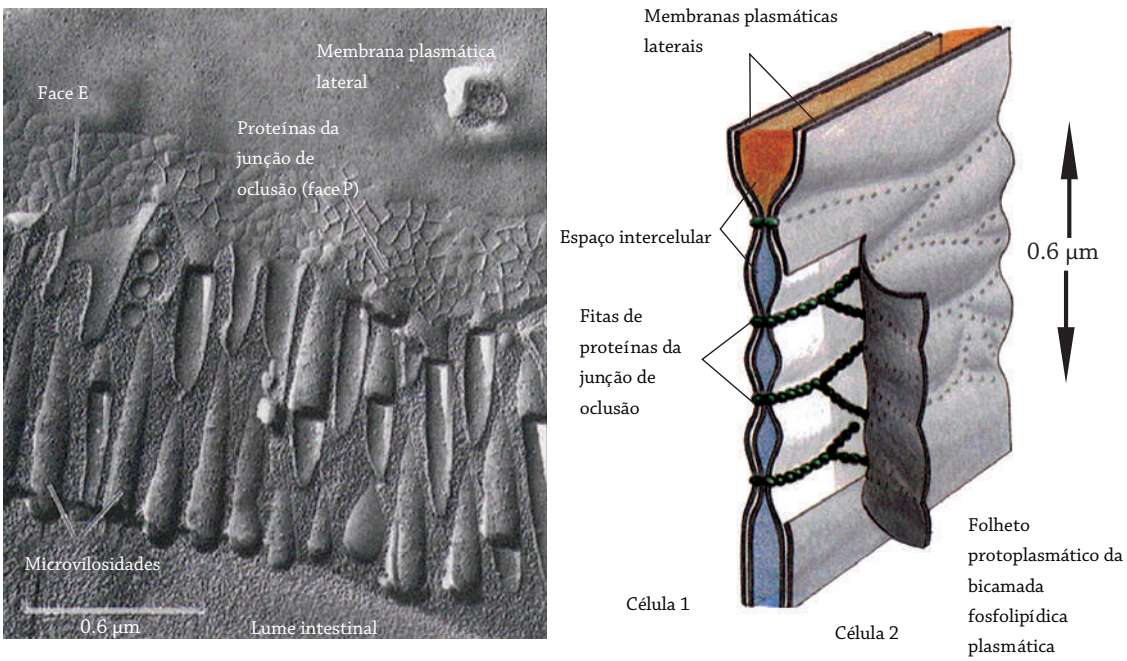


Figura 9 – Zona de oclusão em criofratura e em esquema

A **zona de adesão** forma um cinturão contínuo em torno da célula que adere as células umas às outras, por meio de moléculas de adesão dependentes de cálcio, as caderinas. Veja o quadro demonstrativo dos principais tipos de moléculas de adesão.

QUADRO 1
Principais tipos de moléculas de adesão

Tipo	Locais de Ocorrência	Ligantes	Particularidades	Exemplos
Selectinas	Endotélio, linfócitos, plaquetas.	Interagem com açúcares específicos no glicocálice e na matriz extracelular.	Sua função é dependente de Ca^{+2}. Promovem adesão fraca inicial, que pode dar início às etapas posteriores.	P-selectina, E-selectina no endotélio e L-selectina em leucócitos.
Caderinas	Epiteliais, musculares.	Dímeros da caderina estabelecem ligação homofílica com dímeros em outras células. Presentes na zona de adesão e nos desmossomos.	Sua função é dependente de Ca^{+2}. Associam-se às cateninas e aos microfilamentos de actina.	E-caderina nos epitélios, N-caderina no sistema nervoso, P-caderina na placenta. Desmogleínas nos desmossomos.
Integrinas	São expressas em tecidos diferentes, se ligam à fibronectina, ou laminina, na matriz e ao citoesqueleto na célula. Nos hemidesmossomos se ligam a filamentos intermediários.	Importantes na adesão das células à lâmina basal e outros componentes da matriz extracelular, assim como na interação linfocitária.	Formadas por subunidades alfa e beta.	$\alpha 4\beta 1$ nas mucosas.
CAMs	Várias.	Ligações homotípicas.	Moleculas de adesão celular. Pertencem à superfamília das imunoglobulinas. Importantes na migração celular.	VCAM vascular, ECAM endotélio, NCAM neural, ICAMS em leucócitos.

Essas proteínas transmembranares estão associadas por uma série de outras aos microfilamentos de actina, que formam a trama apical da célula. O estabelecimento da zona de adesão e sua conexão com os microfilamentos de actina conferem a essa junção a capacidade de sinalizar internamente na célula o estado de adesão e a taxa de proliferação celular em relação ao tecido, a polarização da célula e, finalmente, propiciar mudanças de forma da camada epitelial. Esse processo é particularmente importante durante a formação dos folhetos epiteliais e de órgãos, como as glândulas anexas ao tubo digestivo (Figura 10).

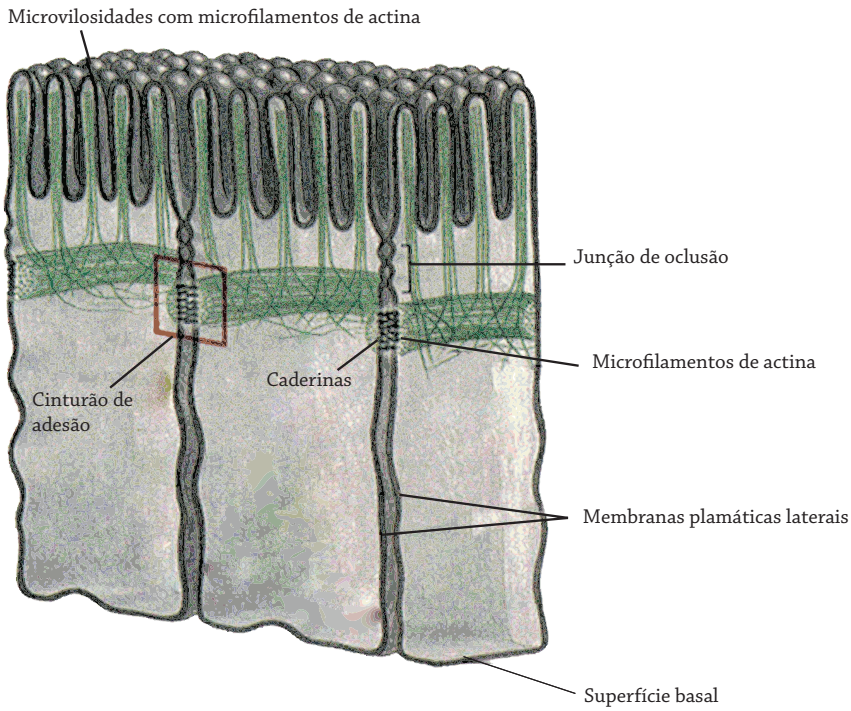


Figura 10 – Esquema de zona de adesão formando um cinturão contínuo em célula absortiva intestinal

Os **desmossomos** (Figura 11) são junções pontuais de adesão entre células vizinhas. Eles estão presentes no complexo juncional, mas também em outros pontos de adesão entre as células. As moléculas que permitem a adesão são também as caderinas. Do lado citoplasmático, uma placa proteica ancora as caderinas e os filamentos intermediários, formando uma estrutura juncional, relativamente mais forte que a zona de adesão. A presença dos desmossomos nos epitélios confere a eles a resistência das forças de tração.

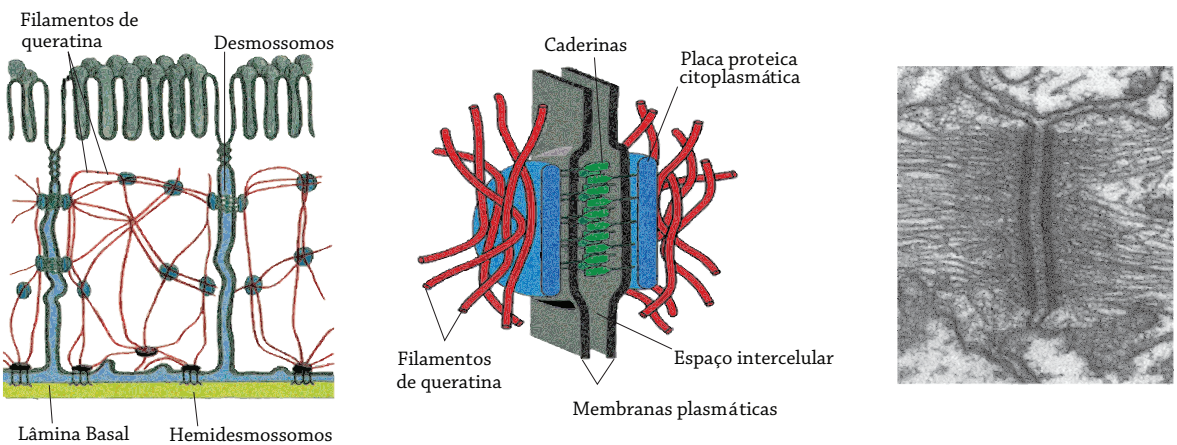


Figura 11 – a) e b) mostram o esquema da distribuição de desmossomos em célula absortiva intestinal e de um desmossomo associado a filamentos intermediários; c) desmossomo cortado transversalmente associado aos filamentos intermediários em micrografia eletrônica de transmissão

JUNÇÕES COMUNICANTES

As junções comunicantes, nexus ou *gap junctions*, são estruturas em forma de disco que unem poros proteicos da membrana de uma célula com poros da membrana de outra célula. Esses poros, ou conexônios, são formados por seis moléculas de conexina, as quais formam um canal com diâmetro definido. É esse poro que fará a comunicação entre o citoplasma de uma célula com o de outra adjacente. Esse tipo de junção permite a passagem de pequenas moléculas de até 1.000 daltons, dentre elas algumas moléculas sinalizadoras, como o Ca^{+2}, o óxido nítrico e o AMPc. A passagem dessas substâncias sinalizadoras de uma célula para outra é capaz de propagar estímulos da maneira de uma sinapse elétrica, isto é, que promove a despolarização de células vizinhas (Figura 12). Os nexus, portanto, são também considerados como o tipo de sinapses que, no sistema nervoso, pode conectar neurônios; no músculo liso ou no estriado cardíaco pode propagar a despolarização induzida por neurotransmissores por meio de células musculares adjacentes.

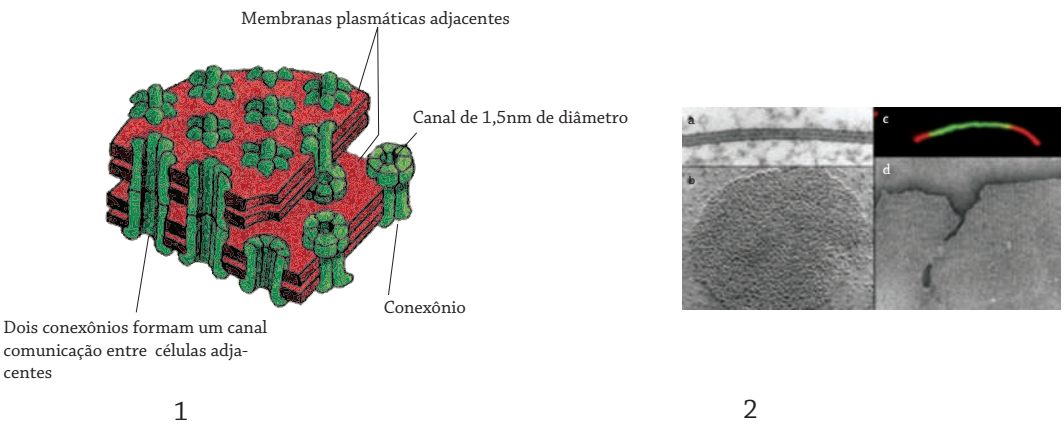


Figura 12 – 1) Desenho esquemático de uma região de nexus ou *gap*; 2) sequência de imagens do *gap* com técnicas variadas – a) microscopia eletrônica de transmissão; b) criofratura; c) microscopia de fluorescência; d) coloração negativa

PLASMODESMOS

A conexão entre os protoplastos de células vegetais adjacentes é feita por plasmodesmos, estruturas características da célula vegetal. As junções de membrana, estudadas anteriormente, não estão presentes nos vegetais, uma vez que nesses organismos a membrana plasmática de cada célula fica separada da célula vizinha pela porção de parede celular de ambas.

O que é um plasmodesmo? Qual a sua estrutura e função? Um filamento de citoplasma que une células adjacentes, você deve ter ouvido... Vamos compreendê-lo melhor?

Veja a Figura 13. Cada segmento de retículo endoplasmático que, na região do plasmodesmo, recebe o nome de desmotúbulo, é envolvido por uma fina matriz citoplasmática e esse conjunto é envolto pela membrana plasmática. A passagem de substâncias através do plasmodesmo ocorre preferencialmente no filme de citoplasma que envolve o desmotúbulo, sendo a abertura desta via regulável por meio de proteínas contráteis. Portanto, o plasmodesmo é uma via de transporte regulável e permite a passagem de determinados compostos, geralmente de baixo peso molecular.

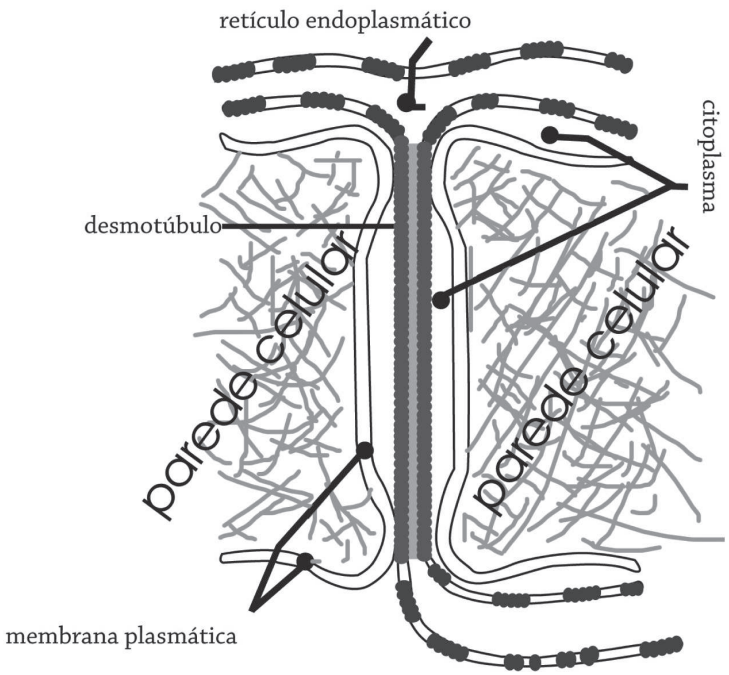


Figura 13 – Esquemas da estrutura dos plasmodesmo

HEMIDESMOSSOMOS E LÂMINA BASAL

Os tecidos epiteliais estão apoiados no tecido conjuntivo frouxo por meio de uma estrutura chamada lâmina basal. Uma malha de proteínas colágenas, especialmente o colágeno tipo IV e o do tipo VII, associadas à glicoproteínas, aos glicosaminoglicanos e aos proteoglicanos. A lâmina basal conecta-se ao epitélio pela fibronectina e pela laminina, que têm seus receptores expressos na membrana da célula epitelial, na sua face basal. Esses receptores são proteínas da família

das integrinas. As estruturas juncionais, que aderem as células epiteliais à lâmina basal, são os hemidesmossomos. Apesar de o nome sugerir como sendo a "metade" do desmossomo, existem diferenças não só na composição, mas também na função dessas junções. Na verdade, a única similaridade entre elas é que ambas recebem a inserção de filamentos intermediários na placa proteica (característica para cada junção) existente em sua porção voltada para o citoplasma da célula. Além disso, enquanto os desmossomos são responsáveis pela junção entre células, os hemidesmossomos promovem a ligação entre o epitélio e o tecido conjuntivo adjacente, via lâmina basal. Esta é formada por moléculas de adesão e tem, além dessa função, a de orientação para as células epiteliais, filtração, permeabilidade seletiva, diferenciação celular etc. No entanto, ao invés das caderinas, as moléculas de adesão responsáveis pela união célula / lâmina basal são as integrinas.

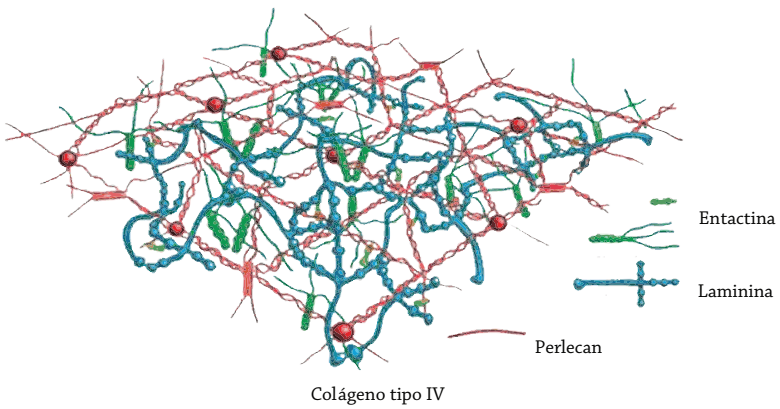


Figura 14 – Esquema da lâmina basal. O colágeno tipo IV forma uma malha ligada à laminina, à entactina e ao perlecan

A lâmina basal é fundamental para funções epiteliais, como a permeabilidade seletiva e a diferenciação celular nos epitélios estratificados. Ela também está presente nos tecidos musculares. Falaremos mais dela quando abordarmos o tema da matriz extracelular. A Figura 15 mostra os hemidesmossomos associados à lâmina basal.

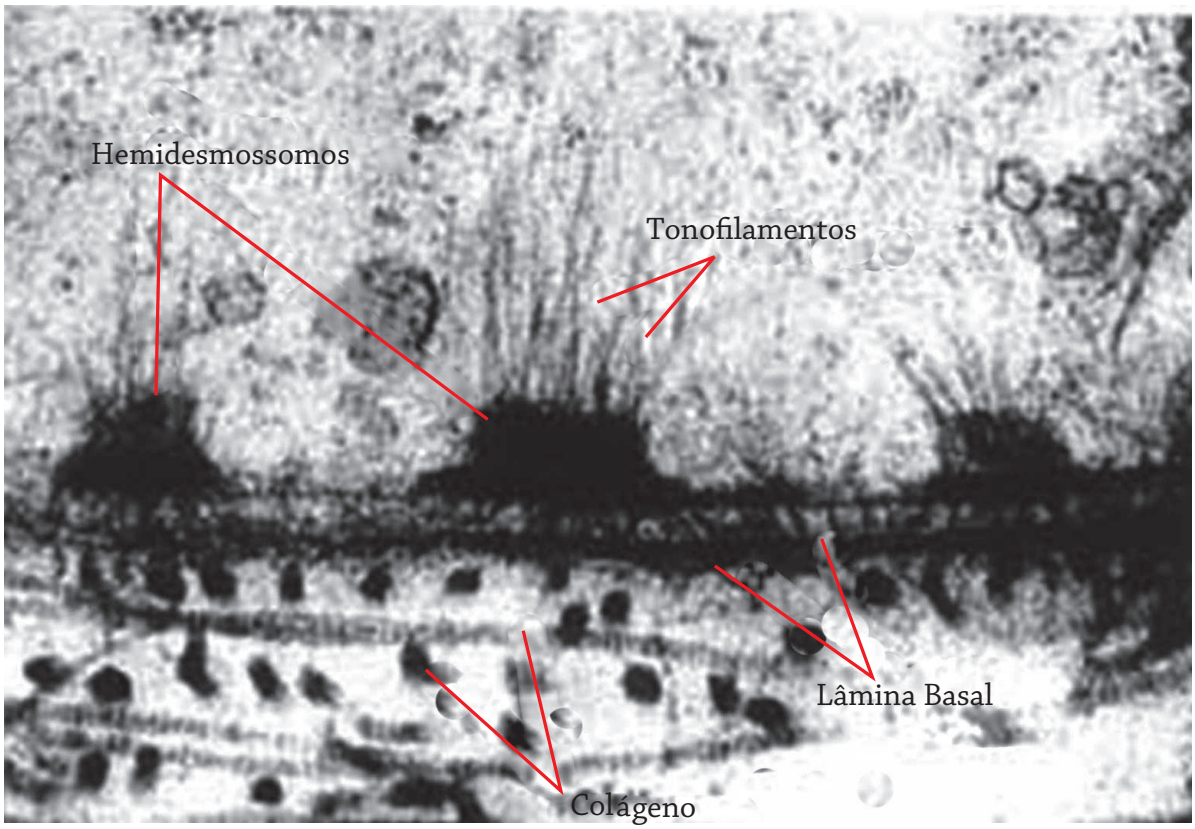


Figura 15 – Região basal de uma célula epitelial aderida por hemidesmossomos à lâmina basal

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Ao estudar as aulas recomendadas para o estudo da membrana plasmática e do citoesqueleto vocês poderão observar como a forma da célula e a distribuição de organelas estão relacionadas. As especializações da membrana plasmática e as junções também se relacionam com os elementos do citoesqueleto. Observe as micrografias eletrônicas e as fotomicrografias de diferentes epitélios obtidas por microscopia de luz.

AUTOAVALIAÇÃO

- Quais as principais especializações da membrana plasmática e suas funções?
- Quais os elementos do citoesqueleto associados a cada uma delas?
- Que elementos do citoesqueleto estão associados às junções entre células e entre as células e seu meio?
- Por que algumas junções não estão presentes nas células vegetais?
- Qual a relação entre os plasmodesmos e as junções comunicantes?

AULA 7

Mitocôndria: transformação e armazenamento de energia

Gleydes Gambogi Parreira

CARACTERÍSTICAS GERAIS

A mitocôndria (*mitos* = filamento; *chondrion* = partícula) é uma das mais importantes organelas citoplasmáticas, existente em praticamente todos os tipos de células eucariontes (vegetais e animais). Existem em número proporcional à atividade metabólica de cada célula, podendo variar de quinhentas, mil ou até dez mil dessas estruturas por célula. As mitocôndrias são capazes de modificar seu aspecto, dependendo do estado funcional da célula, e, normalmente, acumulam-se em locais que estejam diretamente relacionados com alta atividade metabólica, por exemplo, na base dos cílios e ao redor dos microtúbulos dos flagelos, nos espermatozoides.

Geralmente, são estruturas cilíndricas com, aproximadamente, 0,5 micrômetros de diâmetro e vários micrômetros de comprimento. A estrutura morfológica das mitocôndrias inclui duas membranas lipoproteicas, com características próprias e a matriz mitocondrial, em cujo interior estão presentes água, íons enzimas e ribossomos que codificam proteínas necessárias à repiração celular, da qual resulta na produção de energia. A energia liberada é utilizada nas diversas formas de trabalho celular: *movimento*, *produção de calor*, *síntese de macromoléculas*, *transporte ativo* etc. Na sua constituição, podemos ressaltar que a maior parte dos lipídios é formada por fosfolipídios, sendo o restante constituído por triglicerídeos e colesterol. As proteínas são, em sua maior parte, enzimas, das quais se conhecem mais de 70, e estas se relacionam com vários processos metabólicos, como a síntese de proteínas e de hormônios esteroides, por exemplo.

A matriz mitocondrial contém também pequena quantidade de DNA – caracteriza-se por taxa de mutação muito alta – e das três variedades de RNA (mRNA, tRNA e rRNA).

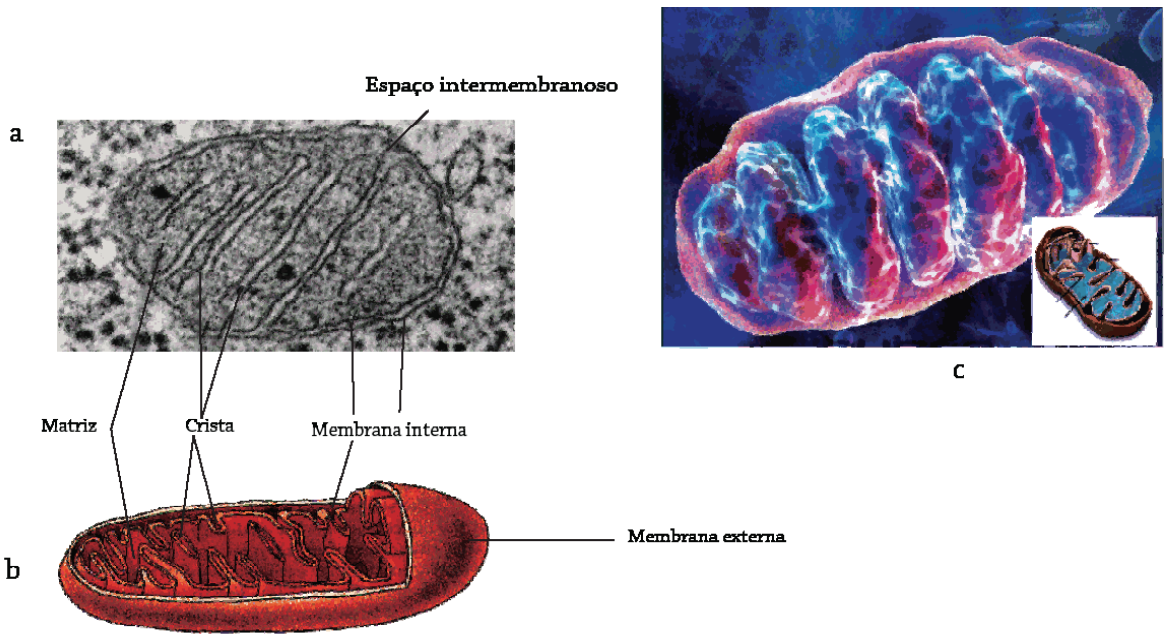


Figura 1 – a) Mitocôndria vista à microscopia eletrônica de transmissão; b) desenho esquemático de uma mitocôndria com suas partes; c) mitocôndria vista à microscopia confocal

Do ponto de vista funcional, os componentes mais importantes de uma mitocôndria são:

Duas unidades de membrana – separadas por um **espaço intermembranoso**, cada qual com funções e proteínas diferentes associadas à sua bicamada lipídica.

Membrana mitocondrial externa – é semelhante às demais membranas da célula eucarionte. A membrana externa é lisa, conferindo à mitocôndria o formato exterior de um bastonete de pontas arredondadas. É muito permeável a diversos tipos de moléculas, devido à presença de proteínas intercaladas na membrana, as porinas, que delimitam canais de transporte. Além disso, a membrana externa é rica em colesterol e em enzimas que selecionam, de modo eficiente, as moléculas e os íons que a atravessam, facilitando a penetração de certas substâncias e dificultando a passagem de outras.

Membrana mitocondrial interna. – a membrana interna apresenta-se pregueada, formando cristas que aumentam sua área de superfície. Ela contém, ao longo de sua extensão, numerosas moléculas proteicas (Figura 2) que exercem as seguintes funções:

- sistema transportador de elétrons da *cadeia respiratória* – essas proteínas são os citocromos *a*, *b* e *c*, a coenzima Q e a proteína citocromo oxidase;

- complexos enzimáticos, chamados *ATP-sintase* – promovem a síntese de moléculas de ATP utilizando a energia liberada na cadeia respiratória. Esses complexos formam as partículas elementares internas (PEI).

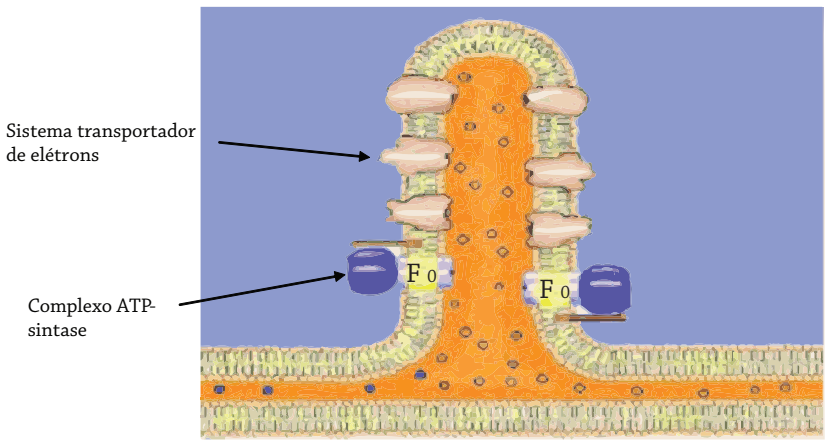


Figura 2 – Esquema da membrana mitocondrial interna e de uma crista. Veem-se vários sistemas transportadores de elétrons e dois complexos de ATP-sintase imersos na camada bimolecular de lipídeos

Na intimidade da mitocôndria, delimitada pela membrana interna, está a **matriz mitocondrial**.

> **Matriz mitocondrial.** A matriz contém alta concentração de enzimas hidrosolúveis, inclusive aquelas relacionadas com as reações do ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico). No ciclo de Krebs há decomposição de substâncias chamadas *acetato* e formação de CO_2 e prótons H^+ (NADH). A matriz também contém várias cópias de moléculas DNA mitocondrial, de ribossomas e de mRNA (RNA mensageiro) e tRNA (RNA transferidor). A matriz contém, ainda, material proteico granular de alta densidade, capaz de se ligar a fosfatos de cálcio e magnésio, precipitando-se na forma de grânulos elétron-densos. É por isso que as mitocôndrias são o segundo destino preferencial de acúmulo do cálcio intracelular (o primeiro sendo o retículo endoplasmático liso).

RESPIRAÇÃO CELULAR

Para obter energia, a célula obrigatoriamente precisa de glicose. A mitocôndria tem a função de quebrar a **glicose** introduzindo oxigênio no carbono; o que resta é o gás carbônico, que sairá através da expiração. Esse processo realizado por essa importante organela celular é conhecido como **respiração celular**. Para que as células possam desempenhar suas funções normalmente, elas dependem de várias reações químicas que ocorrem dentro da mitocôndria, as quais vamos discutir melhor a seguir.

ASPECTOS FUNCIONAIS

Assim, sendo a principal função das mitocôndrias a de metabolizar produtos energéticos da célula, como a **glicose,** e liberar energia, que, em sua maior parte, será utilizada na síntese do ATP, ela usa um conjunto de bombas, carreadores, proteínas transportadoras de elétrons e enzimas para realizar essa conversão. Em linhas gerais, a mitocôndria recebe intermediários químicos produtivamente energéticos de duas principais vias metabólicas: a **glicólise** e a **oxidação dos ácidos graxos**, que usam, respectivamente, **carboidratos** e **gotas lipídicas** como matéria-prima. No entanto, as células não têm como usar diretamente a energia liberada dos hidratos de carbono e gorduras, mas o fazem utilizando um composto intermediário, a *adenosina-trifosfato* ou *trifosfato de adenosina (ATP)* (trinucleotídeo constituído pela base adenina, pelo açúcar ribose e por três fosfatos), geralmente produzido graças à energia contida nas moléculas de glicose e de ácidos graxos. A energia disponível para a célula fica armazenada nas ligações de alta energia existentes entre os dois últimos fosfatos da molécula.

As duas vias alimentam o **ciclo do ácido cítrico** de reações que produzem energia na matriz mitocondrial, em forma de ATP, no processo chamado de **fosforilação oxidativa**. Isso porque o processo requer tanto a participação do oxigênio molecular quanto a adição de fosfato.

ETAPAS DA RESPIRAÇÃO CELULAR

Pois bem, conhecida a estrutura morfológica das mitocôndrias, vamos entender as etapas da respiração celular (Figura 3).

1. Degradação inicial das moléculas de glicose, lipídeos e outros compostos fora das mitocôndrias, no citosol. Os produtos dessas reações são moléculas de piruvato e ácidos graxos que penetram na mitocôndria.
2. Na matriz mitocondrial, a partir do piruvato e da beta oxidação de ácidos graxos, formam-se moléculas de acetato. O acetato combina-se com a coenzima A para formar acetil-coenzimaA. Ainda na matriz mitocondrial, o *acetil-coA* combina-se com o ácido oxalacético para formar o ácido cítrico, dando início ao chamado ciclo de Krebs (*ciclo do ácido cítrico*).
3. Nas diversas etapas do ciclo há várias reações de descarboxilação das moléculas de acetil, que se decompõem em CO_2 e íons H. Esses são transportados graças à presença de enzimas, na forma de NADH. A energia acumulada no H^+ é repassada pelo sistema transportador de elétrons da membrana mitocondrial interna. Metade dessa energia é armazenada em moléculas de ATP a partir da ação do ATP sintase, localizada nas cabeças dos complexos ATP sintetase. A energia restante dissipa-se sob a forma de calor. Ao final do processo, o H^+ liga-se ao oxigênio disponível na mitocôndria formando-se moléculas de água.

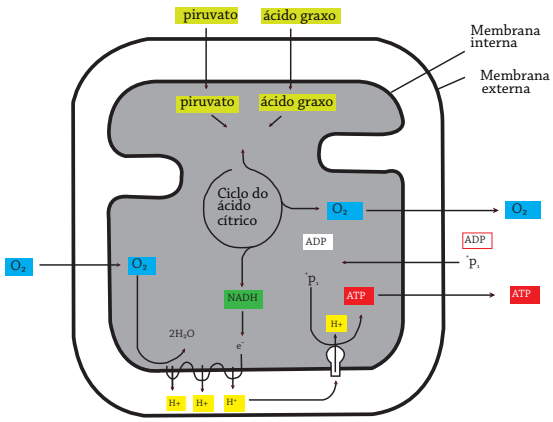


Figura 3 – Desenho esquemático das reações da respiração celular em uma mitocôndria

TEORIA ENDOSSIMBIÓTICA

A presença de material genético na mitocôndria fez emergir teorias sobre sua origem. Muitos biólogos argumentam que tanto as mitocôndrias (organelas relacionadas com a respiração celular) quanto os cloroplastos (organelas relacionadas à fotossíntese) eram seres procariontes de vida livre que foram capturados por heterótrofos e, ao invés de serem digeridos, passaram a viver no interior desses seres mutualisticamente, ou seja, em simbiose com seu hospedeiro. De fato, evidencia-se uma grande semelhança entre o funcionamento e a constituição das mitocôndrias e bactérias.

Segundo essa hipótese, haveria uma relação endossimbiótica com uma bactéria, a então responsável pelo sistema de fosforilação oxidativa. Ela seria uma bactéria púrpura, fotossintetizante, que teria perdido a capacidade fotossintética, se especializando na cadeia respiratória.

Essa hipótese se sustenta pelo fato de tanto o cloroplasto quanto a mitocôndria possuírem em seu interior fragmentos de DNA, distinto do DNA nuclear, que, de alguma forma, se parece com o DNA de algumas bactérias, além de possuírem ribossomos que diferem daqueles do resto da célula.

Isso explica a importação de proteínas citoplasmáticas e a existência de algumas sequências não codificantes no DNA nuclear, correspondendo ao DNA importado recentemente e sem função.

A teoria ainda abre espaço para explicar a presença de duas membranas lipídicas na organela. A membrana mitocondrial interna seria originária da membrana da bactéria endocitada, enquanto a membrana mitocondrial externa seria derivada da própria membrana celular.

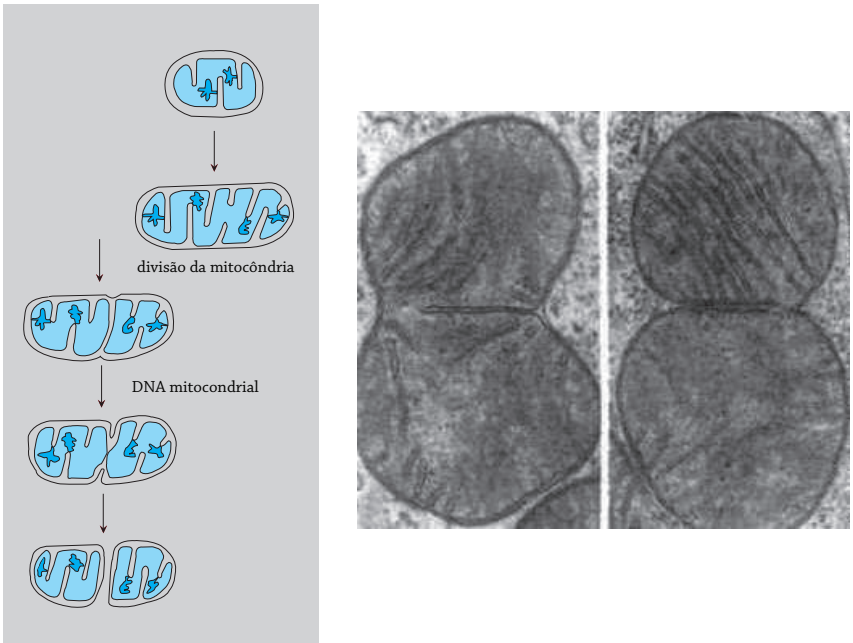
Durante a evolução eucariótica, ocorreu uma grande transferência de genes das mitocôndrias para o núcleo celular, com o objetivo de favorecer a mitocôndria na execução de uma única função principal: o fornecimento energético. Admite-se que, durante o processo evolutivo, as mitocôndrias perderam, gradualmente, a maior parte do seu genoma, o qual foi transferido para a célula eucarionte hospedeira. Assim, as mitocôndrias tornaram-se dependentes de proteínas codificadas pelo genoma do núcleo da célula. A maior parte das proteínas das mitocôndrias é codificada por RNA mensageiro proveniente do núcleo celular, sintetizadas nos polirribossomos da matriz citoplasmática e, por último, transferidas para dentro das mitocôndrias.

Seja qual for sua origem, função das mitocôndrias é vital para a célula, sem a qual há morte celular. Talvez isso explique porque são consideradas entidades com baixo índice de mutações. Geneticistas aproveitam essa propriedade para examinar, através do DNA mitocondrial, as relações de parentesco entre os grandes grupos de seres vivos.

Em resumo, podemos considerar que as mitocôndrias têm características que evidenciam certo grau de autonomia funcional em relação às células onde se situam. Essas características são:

- Possuem DNA próprios, os (mit) DNA, semelhantes aos das bactérias. As moléculas são constituídas por filamentos duplos, geralmente circulares.
- Uma particularidade do (mit) DNA é sua origem ser exclusivamente materna. Assim, em um organismo multicelular as mitocôndrias originam-se a partir do óvulo no momento da fecundação, sem participação do espermatozoide.
- Essas organelas possuem também RNA mitocondrial do tipo: r-RNA (ribossômico); m-RNA (mensageiro); e t-RNA (transportador).
- Sintetizam proteínas próprias, a partir do (mit) RNA. Devido ao pequeno teor de (mit) DNA, apenas 5% das proteínas são produzidas localmente, o que corresponde a entre 10 e 13 variedades de proteínas. A maioria dessas proteínas de produção intramitocondrial destina-se à membrana mitocondrial interna. O restante, correspondente a 95% de suas necessidades, origina-se de síntese no citosol em polirribossomas livres.
- Em células mitóticas, mitocôndrias dividem-se no citoplasma por fissão binária (divisão). Processo semelhante ocorre na divisão das bactérias.

REPRODUÇÃO DAS MITOCÔNDRIAS



a b

Figura 4 -a) Desenho esquemático exibindo a divisão mitocondrial; b) micrografia eletrônica de uma divisão mitocondrial

As mitocôndrias possuem a capacidade de se autoduplicar. É dessa maneira que surgem as novas mitocôndrias nas células. A capacidade de reprodução das mitocôndrias está associada ao fato de essas organelas possuírem DNA, sendo capazes de sintetizar, elas mesmas, parte de suas proteínas. Nesse aspecto, as mitocôndrias comportam-se como se fossem seres relativamente independentes, que vivem no interior das células eucariontes. Como vimos anteriormente, existem fortes evidências de que os ancestrais das mitocôndrias foram organismos procariontes de vida livre. Em um passado remoto, esses seres passaram a viver com os ancestrais dos eucariontes atuais, estabelecendo com eles uma relação de interdependência mutualística tão estreita que nunca mais puderam se separar. Assim, antes da divisão celular, todas as mitocôndrias da célula se separaram em dois grupos que se colocaram em cada um dos lados do citoplasma. Após a divisão, cada célula que se originou ficou com um dos grupos. Esses se duplicaram e cresceram reestabelecendo o número normal de mitocôndrias na célula.

O número de mitocôndrias é controlado por autofagia. Esse é um processo no qual os lisossomos estão envolvidos para controlar os constituintes celulares. O processo começa pela adição de membranas do retículo endoplasmático ao redor da mitocôndria. Então, vesículas vêm do complexo de Golgi e se juntam no vacúolo autofágico. Estas vesículas contêm hidrolases ligadas a receptores de manose-6--fosfato nas membranas das vesículas. Elas se fundem com o vacúolo

autofágico. O pH ácido permite que as hidrolases sejam removidas dos seus receptores, os quais são reciclados no complexo de Golgi em outras vesículas. Ao mesmo tempo, os lisossomos se formam à medida que o pH cai e a célula começa a degradar o conteúdo.

ATIVIDADE PRÁTICA

Ao longo de nossa aula, tivemos oportunidade de observar a ultraestrutura das mitocôndrias nas imagens das micrografias eletrônicas que foram sendo anexadas. Dessa forma, vimos suas duas membranas externa e interna, e até mesmo o complexo ATPsintase, junto da membrana mitocondrial interna.

No entanto, podemos "ver" a mitocôndria também através de técnicas histológicas; melhor explicando: podemos verificar a riqueza e a distribuição das mesmas no interior das células. Para tal, escolhemos o corte de fígado, reconhecidamente rico nessas organelas, e fizemos sua coloração através da técnica de Pollak. Não vamos nos ater à explicação da técnica, já que não é o escopo deste assunto, mas vamos direcioná-lo no entendimento da distribuição das mitocôndrias no interior das células hepáticas.

Lâmina 02

- Corte: fígado
- coloração: técnica de Pollak;
- contracoloração: verde luz (esse corante foi usado para que pudéssemos ter a noção do citoplasma dos hepatócitos).

- Em menor aumento identifique a distribuição dos hepatócitos em fileiras. Passe para o maior aumento e observe que o citoplasma das células é povoado por inúmeras mitocôndrias, que aqui aparecem como pequeníssimas partículas (parecem uma "poeirinha") coradas em tom escuro.

AUTOAVALIAÇÃO

- Descreva a estrutura morfológica da mitocôndria.
- Relacione as partes da mitocôndria com cada processo da respiração celular.
- Qual é a relação evolutiva da bactéria com a mitocôndria?
- Como acontece a reprodução das mitocôndrias?

AULA 8

Plastídios

Élder Antônio Sousa e Paiva

Objetivos
- Conhecer a origem e a estrutura dos plastídios.
- Conhecer os diferentes tipos de plastídios.
- Correlacionar os tipos de plastídios com as funções que exercem.
- Estabelecer relações entre cloroplasto, clorofila e fotossíntese.

Os plastídios constituem um grupo de organelas citoplasmáticas típicas da célula vegetal e desempenham importantes funções, tais como fotossíntese, síntese e armazenagem de lipídios e amido, síntese e armazenagem de compostos responsáveis pela cor de diversos órgãos vegetais, dentre outras.

Há muita similaridade entre plastídios e mitocôndrias, incluindo a hipótese de que essas organelas são originárias de organismos de vida livre que, ao longo do processo evolutivo, passaram a ser endossimbiontes em células eucariotas. Os plastídios também apresentam dupla membrana, sendo a membrana interna geralmente mais desenvolvida, e uma matriz análoga à matriz mitocondrial, denominada estroma.

Nas etapas iniciais da diferenciação celular, os plastídios são diminutos, simples e apresentam sistema de membranas internas pouco desenvolvido. Nessa fase, essas organelas são denominadas proplastídios e são precursoras dos demais tipos de plastídios, que veremos a seguir. Os plastídios constituem parte da chamada herança materna, ou seja, durante a reprodução sexuada essas organelas, assim como as mitocôndrias, são transferidas para a próxima geração através do gameta feminino. Isso acontece porque o gameta masculino não apresenta essas organelas ou suas precursoras; por outro lado, a oosfera (gameta feminino) tem em seu citoplasma mitocôndrias e proplastídios. Ora, como os plastídios provenientes do gameta feminino darão origem à imensa quantidade dessas organelas, presentes em praticamente todas as células do corpo vegetal? Eles se multiplicam por divisão. Assim, os proplastídios presentes no embrião formam todos os plastídios do vegetal ao longo de seu ciclo de vida.

Da diferenciação dos proplastídios, dois grupos principais de plastídios serão formados: aqueles desprovidos de pigmentos e outro constituído por plastídios pigmentados.

Os plastídios sem pigmentos são denominados leucoplastos, caracterizam-se por apresentar sistema de membranas internas pouco desenvolvido e estão relacionados à síntese e ao acúmulo de reservas nutritivas. Leucoplastos que acumulam amido, lipídios e proteína recebem o nome de amiloplastos, elaioplastos e proteoplastos, respectivamente. Os leucoplastos são encontrados, principalmente, em órgãos não fotossintetizantes, como por exemplo, caules e raízes. Se leucoplastos são expostos à luz, o sistema de membranas internas pode se desenvolver e ocorrer síntese de clorofila, assim essas organelas serão convertidas em cloroplastos (isso acontece com a batata-inglesa, por exemplo).

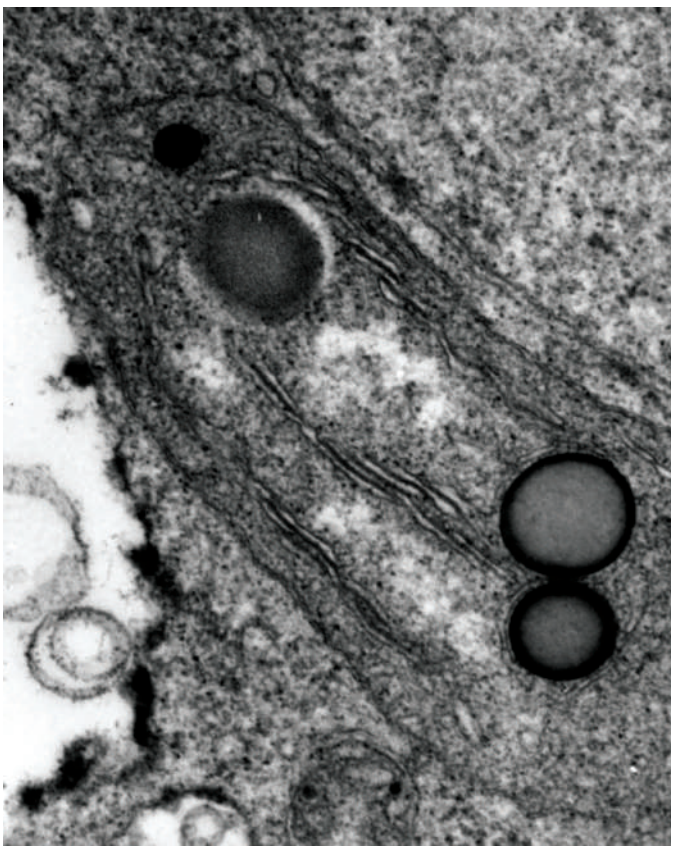


Figura 1 – Elaioplasto observado ao microscópio eletrônico de transmissão. Observar gotas de óleo no interior do plastídio e o sistema de membranas internas pouco desenvolvido

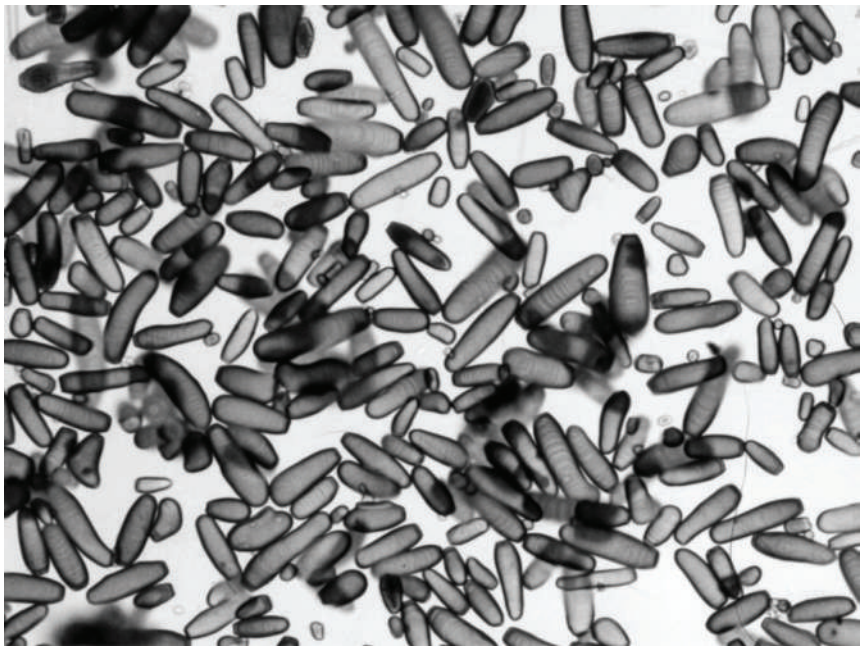


Figura 2 – Grãos de amido de *Dieffenbachia* sp. (comigo-ninguém-pode) observados ao microscópio de luz. Cada grão se desenvolveu dentro de um amiloplasto

Os plastídios pigmentados são divididos em duas categorias: cloroplastos e cromoplastos. Enquanto os primeiros apresentam clorofila como pigmento principal, o segundo grupo apresenta carotenoides e xantofilas.

Quando proplastídios são expostos à luz, o sistema de membranas internas se desenvolve e formam-se tilacoides e *grana*, dando origem aos cloroplastos, organelas que apresentam moléculas de clorofila nas membranas internas e são responsáveis por todo o processo de fotossíntese. Pense em como seria a vida em nosso planeta sem a presença de cloroplastos, ou seja, sem a presença de organelas nas quais ocorre a produção da energia que predomina em todos os níveis da cadeia alimentar... Um imenso vazio! Pouquíssimos organismos, além das plantas, são capazes de sintetizar sua própria energia.

As moléculas de clorofila têm vida curta e são constantemente renovadas. No caso da ausência de luz, os cloroplastos perdem a organização do sistema de membranas internas e ficam desprovidos de clorofilas, passando a constituir outra categoria de plastídios – os etioplastos. Quando expostos novamente à luz, os etioplastos serão convertidos em cloroplastos.

A dupla membrana do cloroplasto apresenta composição química basicamente igual a das demais membranas biológicas. Enquanto a membrana externa se mostra lisa, a interna é altamente invaginada, formando uma ampla rede de lamelas dispostas em pilhas, que formam os tilacoides. Em alguns pontos os tilacoides aparecem empilhados formando os *grana*.

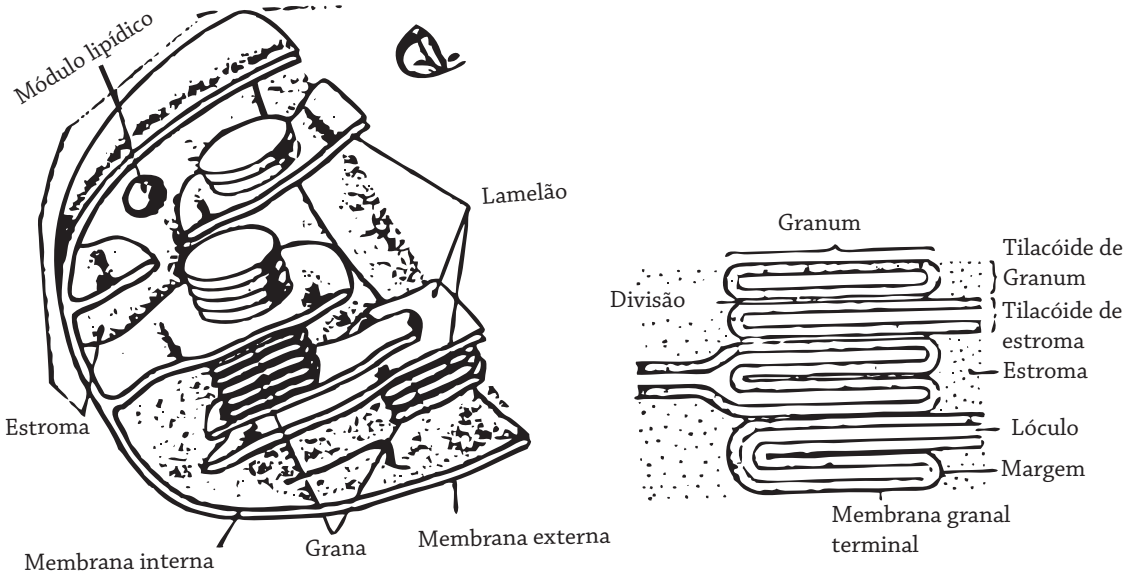


Figura 3 – Diagrama mostrando detalhes do cloroplasto, com ênfase na organização do sistema de membranas internas

Nos vegetais superiores os cloroplastos são predominantemente lenticulares e ocorrem em grande número por célula, sendo facilmente observáveis ao microscópio de luz. A cor verde da maioria das folhas que você conhece nos dá a sensação de que os tecidos da folha são homogeneamente verdes; entretanto, ao microscópio, vocês observarão que essa cor é restrita aos inúmeros cloroplastos que existem nas células desse tecido. As moléculas de clorofila, que estão imersas na membrana dos tilacoides, refletem a luz verde, daí a cor dos cloroplastos.

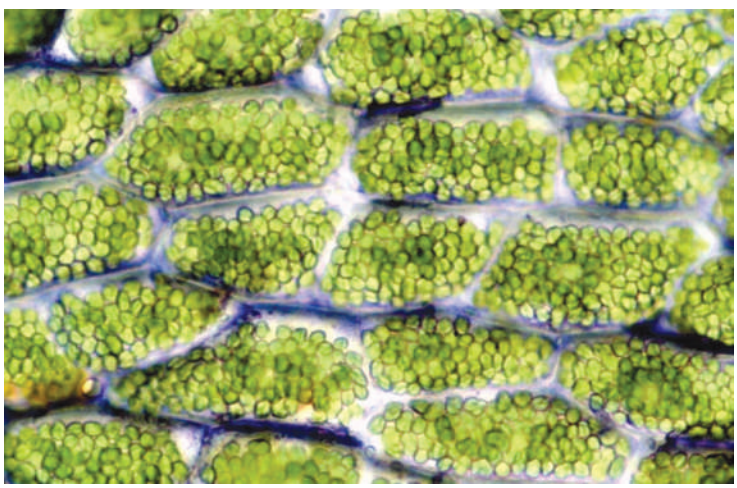


Figura 4 – Fotomicrografia de células parenquimáticas com numerosos cloroplastos

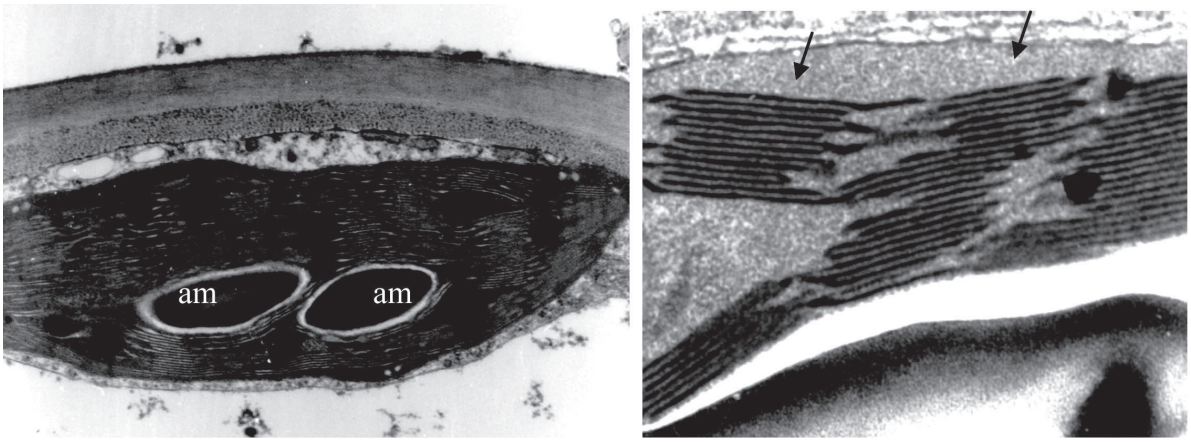


Figura 5 – Cloroplasto observado ao microscópio eletrônico de transmissão. No detalhe é possível identificar os *grana* (setas). Grãos de amido (am) são observados no interior da organela

Os cromoplastos, embora possam apresentar sistema de membranas internas relativamente bem desenvolvido, são desprovidos de *grana,* e os pigmentos predominantes são carotenoides ou xantofilas, os quais conferem cores que variam do amarelo ao vermelho intenso. O formato dessas organelas é bastante variável, sendo descritas como ameboides em diversas situações. Os carotenoides são bons antioxidantes e precursores da vitamina A, razão pela qual despertam grande interesse por parte do homem.

Do exposto, pode-se deduzir que os plastídios são reversíveis, ou seja, um tipo pode se transformar em outro num processo reversível. Os cloroplastos, por exemplo, são convertidos em cromoplastos nas folhas velhas e nos frutos – esses passam da cor verde para o laranja ou vermelho.

AUTOAVALIAÇÃO

- Quais as semelhanças entre cloroplastos e mitocôndrias? Qual a razão dessas semelhanças?
- Procure saber mais a respeito da origem dos plastídios.
- Em que partes do vegetal predominam os cloroplastos? E os amiloplastos?
- Descreva a estrutura de um cloroplasto.

AULA 9

Núcleo celular

Gleydes Gambogi Parreira
Gleide Fernandes de Avelar

Objetivos
- Conhecer as partes do núcleo.
- Diferenciar os componentes nucleares.
- Diferenciar os componentes nucleolares.
- Estudar a estrutura da cromatina.
- Conhecer o ciclo celular.

INTRODUÇÃO

Fazendo uma analogia com um time de futebol, no qual o técnico delega funções aos jogadores, a fim de que obtenham o melhor aproveitamento, poderemos compreender o papel do núcleo como um centro organizador da célula. A partir das instruções contidas no material genético nuclear é que as células sintetizarão proteínas, as quais determinarão sua sobrevivência ou morte.

O CICLO CELULAR

Principalmente durante o crescimento de um organismo, as células alternam fases nas quais estão se dividindo e fases nas quais estão se preparando para se dividir (intérfase). Essa sequência de eventos é conhecida como **ciclo celular**. Inicialmente, acreditava-se que a intérfase era um período de "repouso", no qual a célula permanecia estacionada até que se iniciasse a divisão propriamente dita, na qual eram observadas profundas alterações bioquímicas e morfológicas do núcleo.

Esse conceito mudou, ao longo dos anos, a partir do momento em que os pontos críticos do ciclo celular foram sendo identificados. Assim, a intérfase deixou de ser vista como um mero estado de quiescência para assumir um importante papel para a sobrevivência celular. A intérfase foi dividida em três fases:

- **G1 (*gap 1*)**, em que há intensa síntese proteica, crescimento celular e início da duplicação dos centríolos;
- **S (*síntese*)**, na qual ocorre a duplicação do DNA;
- **G2 (*gap 2*)**, caracterizada também por síntese proteica, crescimento celular e término da duplicação dos centríolos;
- **M (*mitose*)**, momento em que ocorre a mitose e a citocinese (Figura 1). Considera-se também a fase G0 (zero), que compreende a célula pós-mitótica, isto é, madura e exercendo plenamente suas funções, como, por exemplo, a célula de Sertoli nos testículos. Desse modo, podemos verificar que o ciclo de uma célula, na verdade, é constituído por cinco fases.

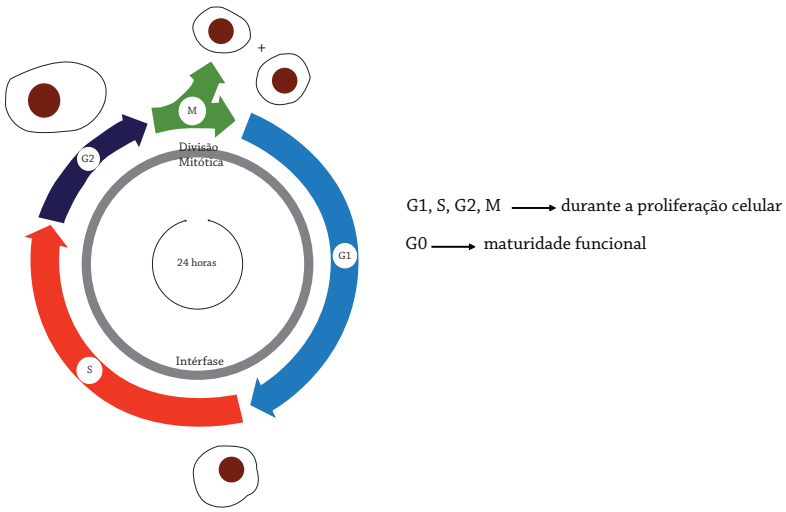


Figura 1 – Desenho esquemático especificando as etapas do ciclo celular

Mas, afinal de contas, que evento determina então que uma célula deve sair do estado de repouso, como acontece com as células-tronco do epitélio intestinal, para então se dividirem? Não te parece intrigante?

Pois bem, uma célula pode permanecer na fase G1 do ciclo celular por horas, dias ou anos (Figura 2), ao final de um ciclo de proliferação.

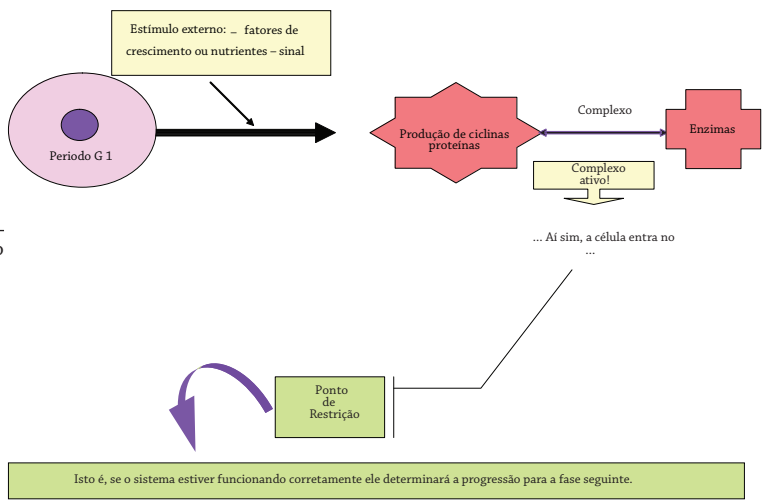


Figura 2 – Esquema do controle do ciclo celular

A partir do momento em que a célula recebe um estímulo externo, normalmente fatores de crescimento ou nutrientes, esse será reconhecido como um *sinal* para que as organelas especializadas em síntese de proteínas citoplasmáticas produzam as *ciclinas*, que, por sua vez, se associam a enzimas específicas, chamadas *quinases*, as quais, aliás, dependem da associação com as próprias ciclinas para se tornarem ativas. A propósito, as quinases também estão dispersas no citoplasma. Esses complexos são responsáveis pela passagem da célula por um **ponto de restrição**, isto é, se o sistema estiver funcionando corretamente isso determinará a progressão para a fase seguinte. Ao contrário, se for identificado algum problema, a célula não prossegue com a divisão, sendo que o processo permanece parado, até que mecanismos de reparo possam atuar. Mas essa parada não acontece somente em uma condição patológica. Muitas vezes, as células têm que parar de se dividir.

Como se interrompe a progressão das células para outras fases do ciclo celular?

Existem duas famílias de proteínas que inibem as quinases, as quais formam complexos com as ciclinas. Assim, quando esses inibidores são produzidos, eles se ligam às quinases, separando-as das ciclinas, impedindo sua atividade.

Para facilitar o entendimento, iniciaremos nossos estudos pelo núcleo interfásico.

Ponto de Restrição:

Todas as células possuem um ponto de decisão principal no final da fase G1, do ciclo celular que monitora o tamanho das células, as condições dos cromossomos e o ambiente externo às células. Estes estímulos têm a capacidade de direcionar a outro ciclo de replicação de DNA e mitose. Mas, primeiro, a célula deve passar por um ponto crucial de decisão na etapa final da fase G1 que é definido como o ponto de restrição.

NÚCLEO INTERFÁSICO

O núcleo nos eucariontes é constituído pelo envoltório nuclear, o nucleoplasma, a cromatina e os nucléolos (Figura 3).

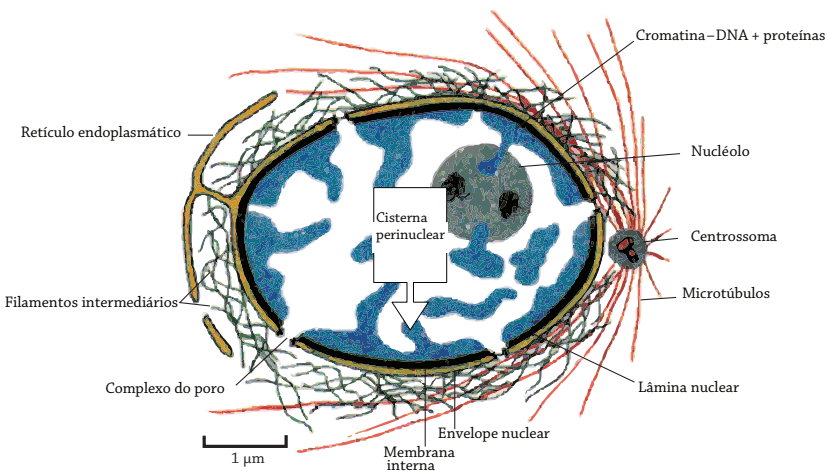


Figura 3 – Desenho esquemático dos componentes nucleares. Observe a continuidade com o retículo endoplasmático granular

Envoltório nuclear

Estrutura membranosa que separa o material genético do citoplasma. É formada por duas unidades de membrana que delimitam uma cavidade, a **cisterna perinuclear**, cujo conteúdo abrange água, íons, proteínas etc.

Associada à face nucleoplasmática da **membrana interna** encontramos a **lâmina nuclear**, que confere forma e sustentação ao envoltório. É constituída por uma rede de filamentos intermediários, as *lamins A, B* e *C*, cujas funções são distintas e variam de acordo com o estado funcional do núcleo. Durante a intérfase, essa rede presta-se à fixação da cromatina. Já ao final da telófase, ela é de extrema importância, pois coordena a reconstituição do envelope após a divisão celular. Ou seja, em linhas gerais, assim que a célula recebe a sinalização para a divisão, as *lamins* são fosforiladas e se desconectam entre si. A *lamin B* permanece associada às vesículas do envelope nuclear. As *lamins A* e *C* se dissociam do envelope nuclear e permanecem como dímeros solúveis livres no citoplasma durante a prófase. Ao final da telófase, as *lamins* são defosforiladas – as do tipo B unem-se promovendo a remontagem do envelope; na outra extremidade elas se associam às dos tipos A e C, que, por sua vez, se ligam aos filamentos de heterocromatina, levando assim à remontagem do envelope nuclear (Figura 4).

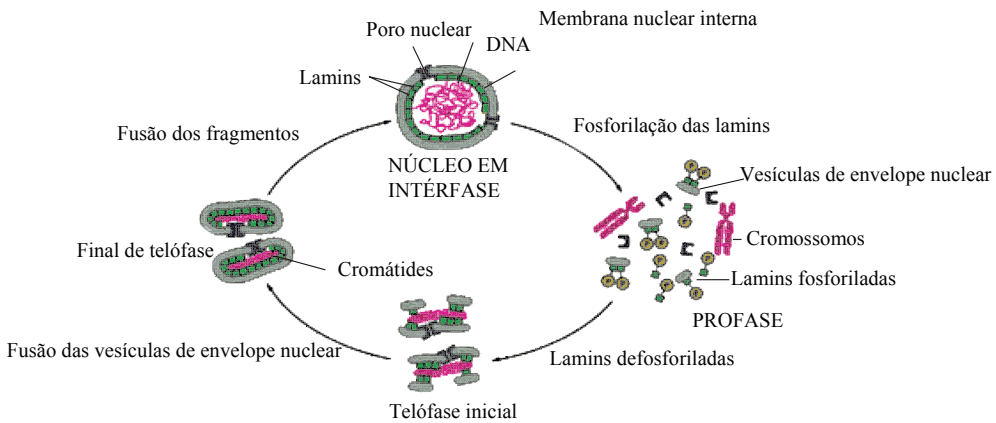


Figura 4 – Esquema da reconstituição do envelope nuclear após a divisão celular sob a coordenação das *lamins*

A **membrana externa** é contínua, com o retículo endoplasmático rugoso, exibindo inclusive a presença de ribossomos aderidos na sua face (Figuras 3 e 5).

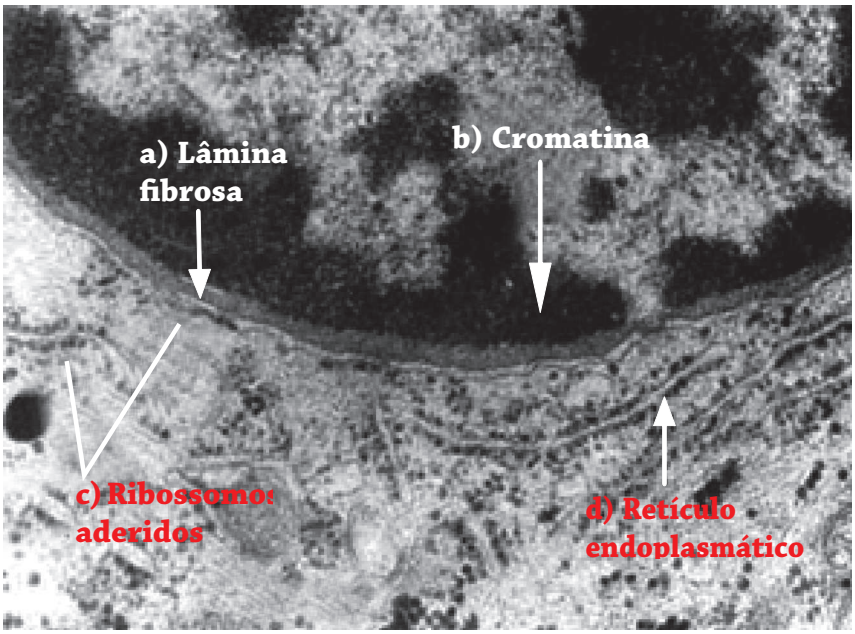


Figura 5 – Micrografia eletrônica do envelope nuclear e detalhes como: a) lâmina fibrilar; b) heterocromatina; c) ribossomos aderidos; d) retículo endoplasmático rugoso

Complexo do poro

O envoltório nuclear não é uma estrutura contínua, ou seja, é interrompido por uma especialização proteica estrutural, o *complexo do poro* (Figura 6). Essas estruturas são formadas a partir da fusão das membranas interna e externa e sua importância funcional está intimamente relacionada ao trânsito de substâncias núcleo/citoplasma, e vice-versa. Células com alta atividade de síntese proteica possuem maior quantidade de poros por unidade de área de superfície do envoltório, quando comparadas com uma de baixa atividade metabólica.

Estruturalmente, o complexo do poro é formado por um arranjo octogonal de proteínas, as **nucleoporinas**, que delimitam o perímetro do poro. Suas extremidades se voltam para as faces citoplasmática e nuclear, na forma de dois anéis ancorados na bicamada lipídica, na qual as membranas interna e externa se fundem. Associadas a essas e voltadas para o interior do poro, encontram-se as proteínas **anulares**. Associados às nucleoporinas, estão oito fibrilas, que se arranjam como uma cesta de basquete voltada para a face nuclear e livres, esses voltados para a face citoplasmática (Figura 6).

Por um momento poderíamos supor que o trânsito núcleo/citoplasma, facilitado pela presença desses poros, poderia expor o material genético a fatores nocivos, o que resultaria na perda de um grande número de células. Mas não é assim que acontece. Na verdade, esses poros são seletivos, impedindo o trânsito livre de macromoléculas e exercem sua seletividade por meio das proteínas

anulares e das fibrilas associadas às nucleoporinas. As Figuras 7 e 8 mostram o complexo do poro visto à microscopia eletrônica de transmissão (MET) e de varredura (MEV), respectivamente.

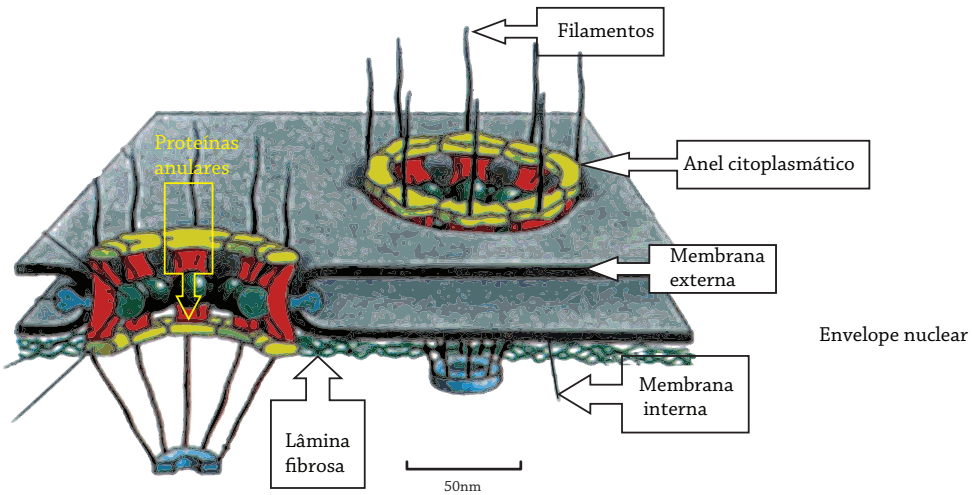


Figura 6 – Desenho esquemático do complexo do poro

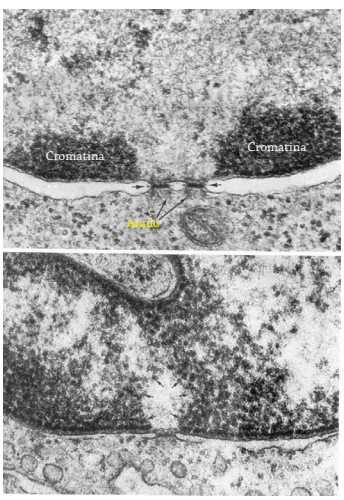


Figura 7 – Complexo do poro visto na MET

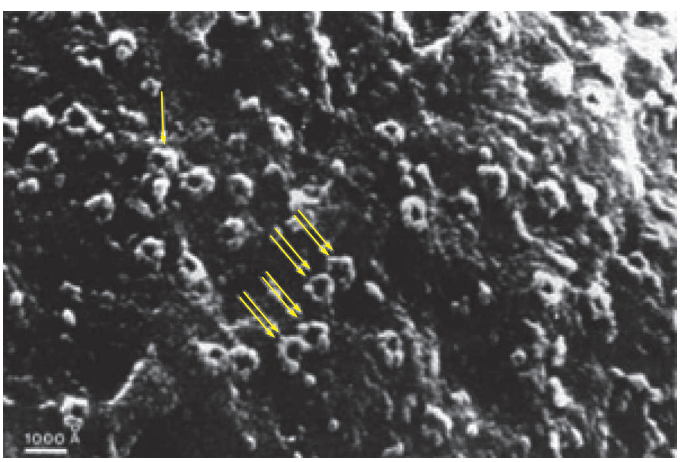


Figura 8 – Complexo do poro visto na MEV

O complexo do poro tem um diâmetro externo de 120nm e um diâmetro interno de 9nm. O trânsito de moléculas através dos complexos do poro pode ocorrer por difusão passiva, quando se tratar de moléculas pequenas, com até 9nm de diâmetro. Nessa condição, elas se difundem passivamente nos dois sentidos através dos canais. Por outro lado, quando se trata de moléculas grandes, tais como proteínas e RNAs, o transporte depende de consumo de energia (ATP e GTP). As proteínas nucleares são sintetizadas no citoplasma e são reconhecidas por uma sequência de 4-8 aminoácidos, rica em lisina e arginina. Sua transferência para o núcleo depende de uma proteína transportadora, a *importina*, que se liga à sequência final referida anteriormente e estabelece a ligação com o complexo do poro, promovendo sua translocação através do poro. A importina retorna ao citoplasma para ser utilizada novamente para transporte.

A exportação de RNAs transcritos para o citoplasma também depende da associação com proteínas nucleares, as *exportinas*. Os sinais que determinam a exportação podem estar contidos nas proteínas ou ainda no próprio RNA.

Nucleoplasma

Solução aquosa de proteínas, RNA, nucleosídios, nucleotídeos e íons, em que estão mergulhados os nucléolos e cromatina. Com o uso de técnicas de extração, fracionamento e microscopia eletrônica foi possível identificar o endoesqueleto nuclear, constituído pela lâmina nuclear, a estrutura nucleolar, e uma rede fibrilar interna, a matriz nuclear. Cabe ressaltar sua riqueza de enzimas envolvidas nos processos nucleares, por exemplo, as DNA e RNA polimerases, topoisomerases, helicases etc.

Cromatina

Constituída pelo **DNA associado a proteínas histonas (básicas) e não-histônicas (estruturais)**. No núcleo interfásico, a cromatina se encontra compactada (heterocromatina) e/ou descompactada (eucromatina). Durante a divisão, a cromatina está fortemente compactada, alcançando o grau máximo de condensação, assumindo a forma de *cromossomo*.

As *histonas* são componentes proteicos importantes da cromatina, sendo bem preservadas filogeneticamente. São conhecidos cinco tipos de histonas: H1, H2A, H2B, H3 e H4. Essas proteínas participam da organização da unidade estrutural básica da cromatina, o **nucleossomo** (Figura 9). Cada nucleossomo é constituído por uma fita de DNA com 200 pares de bases que se enovela a um octâmero de histonas (dois exemplares de H2A, de H2B, de H3 e de H4). Esse "novelo" é fechado externamente pela histona H1. A estrutura formada pelo octâmero envolvido pelo DNA constitui o centro do nucleossoma.

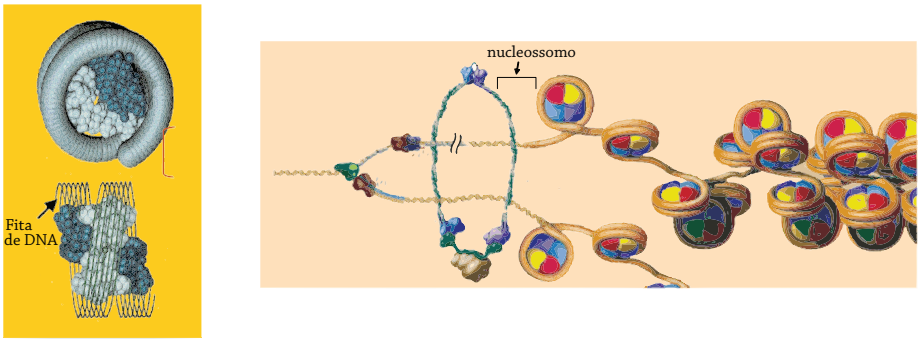


Figura 9 – Desenho esquemático do nucleossomo (histonas + fita com 200 pares de DNA)

As fibras de cromatina podem ser encontradas em quatro formas (Figura 10):

- Fibras só de DNA, mais finas (2nm de espessura);
- Nucleofilamento, com 10nm de espessura, que corresponde ao primeiro nível de compactação da cromatina – DNA + histonas = nucleossomos;
- Solenoide – é formado pela associação de nucleossomos adjacentes (6 a 7), através da interação entre as histonas H1, formando a fibra de 30nm. Esse constitui o segundo nível de compactação da cromatina e se forma pelo enovelamento da fibra de 10nm em uma estrutura helicoidal; esse é o arranjo encontrado no núcleo interfásico;
- Cromossomo – é a cromatina no seu grau máximo de condensação e caracteriza que a célula entrará na fase de divisão celular.

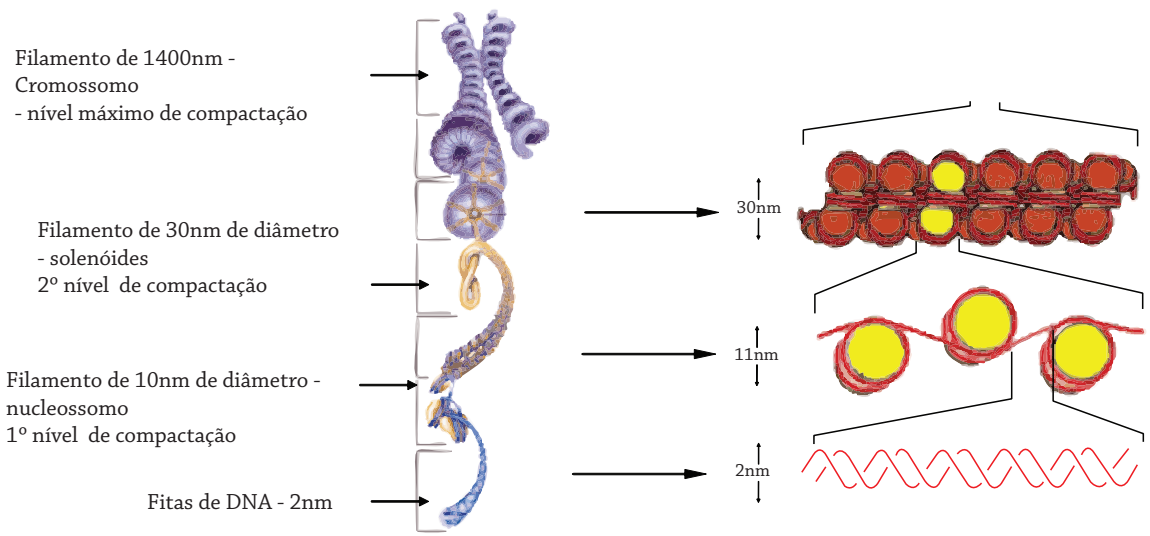
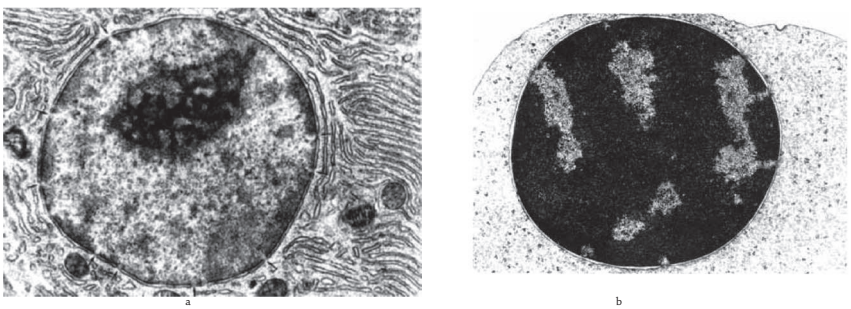


Figura 10 – Desenho esquemático representando os níveis de compactação da cromatina, desde o seu menor nível, o filamento de DNA, até o máximo, o cromossomo

É importante ressaltarmos que as células em intérfase encontram-se em alta atividade metabólica, ou seja, realizando funções de síntese proteica, transporte etc., e apresentam o *núcleo vesiculoso*, caracteristicamente com predomínio de cromatina difusa, chamada de **eucromatina** (Figura 11a). *Núcleos densos* representam grande quantidade de heterocromatina, o que denota uma baixa atividade celular (Figura 11b). Podem ser considerados dois tipos de eucromatina: a ativa, que será de fato transcrita nos diferentes tipos de RNA. Corresponde a 10% do total de cromatina. A eucromatina é o local de síntese de RNA não-ribossômico, incluindo os precursores RNA mensageiro (RNAm) e o RNA transportador (RNAt). Todas as espécies maduras de RNA são derivadas de precursores de grande massa molecular. A cromatina condensada, chamada de heterocromatina, é transcricionalmente inativa e representa 90% do total de cromatina.



a b

Figura 11 – a) Núcleo vesiculoso exibe predominância de eucromatina (cromatina dispersa); b) Núcleo denso, com predomínio de heterocromatina

As células interfásicas possuem dois tipos de heterocromatina: a *constitutiva*, que nunca é transcrita e se localiza em regiões específicas de alguns cromossomos, principalmente no centrômero, e a *facultativa*, que em um mesmo organismo pode estar condensada ou descondensada. O exemplo mais típico é a cromatina sexual presente em células somáticas de indivíduos XX. Nesse caso, a condensação ocorre aleatoriamente, podendo ocorrer tanto no cromossomo X, derivado da mãe, quanto no do pai.

Nucléolo

É o local de síntese do RNA ribossomal (RNAr). São estruturas esféricas, não envolvidas por membranas, constituídas principalmente por proteínas e três principais componentes estruturais distinguíveis ao microscópio eletrônico de transmissão (Figura 12):

- O centro fibrilar, correspondendo à cromatina, com 4 a 8nm de diâmetro;
- Componente fibrilar denso, correspondendo a ribonucleoproteínas contendo fibrilas muito finas, com 3 a 5nm de diâmetro, que envolve o centro fibrilar;

- Componente granular, representa os precursores de ribonucleoproteínas contendo RNA, constituído por grânulos com 10 a 15nm de diâmetro e posicionados externamente aos centros fibrilar e fibrilar denso.

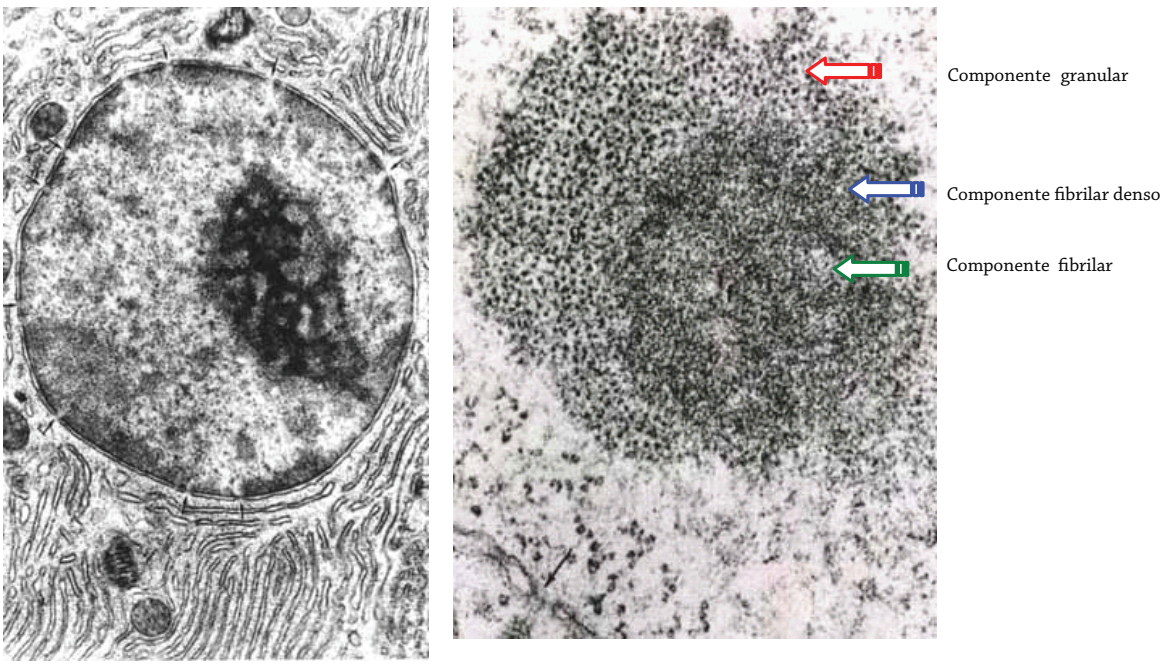


Figura 12 – Micrografia eletrônica do núcleo (a) e nucléolo (b). Em (b) observam-se as três regiões do nucléolo

Funcionalmente, o nucléolo se dissocia durante a mitose e reaparece no início da fase G1 (ciclo celular). Ressaltamos a presença de uma pequena quantidade de DNA, correspondente à cromatina, que contém os genes codificadores dos RNAs ribossômicos (regiões organizadoras do nucléolo – NORs).

NÚCLEO EM DIVISÃO

A divisão celular é o período em que a célula reparte igualmente o seu conteúdo, já duplicado na intérfase, para as duas células-filhas. Sendo assim, é precedida pela duplicação do par de centríolos e cada par resultante migra para os polos opostos do núcleo para organizar um **centrossomo**, que, por sua vez, coordena a formação dos microtúbulos (MTs). Lembrem-se que os MTs farão parte da formação do fuso mitótico, uma de suas funções já comentadas na aula de Citoesqueleto.

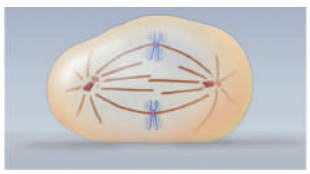
A mitose é dividida em quatro subestágios: prófase, metáfase, anáfase e telófase. Escolhemos apresentar essas fases de forma mais objetiva, como se segue:

1. Prófase



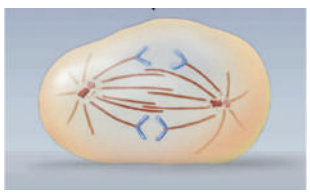
- Condensação gradual das fibras cromatínicas;
- Início da formação do fuso mitótico (MT);
- Fragmentação do envoltório nuclear, quando a lâmina nuclear é fosforilada;
- Microtúbulos se prendem aos cromossomos.

2. Metáfase



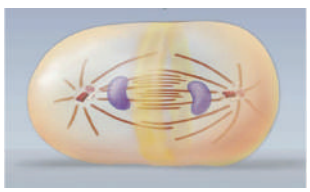
- cromossomos em condensação máxima (1.000 X mais do que na intérfase);
- Alinhamento dos cromossomos na região equatorial da célula, formando a placa metafásica.

3. Anáfase



- Separação sincrônica dos centrômeros e migração das cromátides para os polos opostos (os MTs presos aos cromossomos encurtam-se).

4. Telófase



- Descondensação da cromatina;
- Reorganização dos nucléolos;
- Reconstituição do envoltório nuclear, quando as lamins (lembrem-se que estes são um dos exemplos dos filamentos intermediários) são defosforiladas;
- Fuso mitótico se desmonta.

5. Citocinese



- Divisão do citoplasma deve-se à interação dos filamentos de actina e miosina (formam um anel contrátil na zona equatorial da célula-mãe).

AUTOAVALIAÇÃO

- Descreva a estrutura morfológica do núcleo.
- Qual é a composição morfológica do complexo do poro e quais suas funções?
- Quais são os componentes do nucléolo e suas funções?
- O que são *lamins*? Onde estão localizados? Quais suas funções?
- Quais as etapas da mitose? Cite as características de cada uma dessas fases.

AULA 10

Síntese e degradação celular

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos
- Como se manter: síntese e degradação, os caminhos da reciclagem.
- Identificar as organelas responsáveis pela síntese dos principais compostos.
- Identificar as organelas responsáveis pela degradação de organelas e substâncias.
- Compreender a relação entre a síntese e a degradação de organelas e substâncias.
- Identificar a relação entre a predominância de organelas em tipos celulares diferentes e suas funções.

SÍNTESE E DEGRADAÇÃO: OS CAMINHOS DA RECICLAGEM

Cada célula, já em sua fase diferenciada e em intérfase, exibe um repertório de funções que são possibilitadas pela expressão diferencial de seus genes e pela distribuição e abundância de organelas celulares relacionadas a essas funções.

De acordo com a intensidade de suas atividades, a expressão quantitativa desses genes e o número de organelas de determinados tipos podem variar. Assim, um fibroblasto, célula que produz ativamente a fibra colágena e outras substâncias da matriz extracelular no tecido conjuntivo, pode, durante a intérfase, apresentar fases mais ou menos produtivas. Na fase produtiva, o fibroblasto apresenta o retículo endoplasmático rugoso (RER) e o complexo de Golgi bem desenvolvidos, um grande número de mitocôndrias e muitos prolongamentos da membrana plasmática, que aumentam sua superfície. Quando em repouso, então chamados de fibrócito, essa célula diminui o número de prolongamentos celulares, o número de mitocôndrias, de RER e de Golgi. Como é que ocorre essa "redução" da célula?

Podemos imaginar uma variedade de acontecimentos: a diminuição da transcrição gênica e a condensação da cromatina, a diminuição do nucléolo e da montagem de ribossomos, a diminuição do RER, a

redução das demais organelas de membrana e a despolimerização dos microfilamentos de actina etc. Na verdade, em uma célula que está "diminuindo", a degradação de substâncias e organelas supera a sua produção.

Veremos, a seguir, alguns processos de síntese e de degradação que, em equilíbrio, mantêm uma célula do mesmo tamanho e com a mesma atividade. Por outro lado, se compararmos a morfologia de uma célula fagocítica com a de uma célula secretora de hormônios, observaremos que diferentes organelas predominam nessas células. A preponderância de certas organelas nos revela muito sobre a atividade de uma célula.

A SÍNTESE PROTEICA NO CITOPLASMA

A síntese proteica depende dos **genes presentes no DNA** de cada célula e de todo um aparato enzimático necessário para a **transcrição** e **tradução**. No processo de diferenciação celular, fatores de crescimento e diferenciação, hormônios, neurotransmissores e fatores da matriz extracelular podem induzir uma cascata de sinais intracelulares que alteram a expressão gênica da célula. Isso é controlado por fatores de transcrição que ativam ou reprimem diferentes genes. Assim, após esse processo, um hepatócito em intérfase expressará genes diferentes daqueles expressos em um neurônio.

A transcrição depende de enzimas que produzirão o RNA mensageiro (RNAm) a partir do DNA. O RNAm migrará através do complexo de poros nucleares para o citoplasma, onde ocorrerá a síntese proteica. A produção de subunidades dos ribossomos, papel fundamental do nucléolo, é também essencial para o processo.

A síntese proteica se inicia quando a subunidade pequena do ribossomo se associa à fita de RNAm. Ela tem dois sítios ativos: P (de peptidil) e A (de aminoacil). No sítio P, onde o RNAm exibe o códon AUG iniciador, liga-se um RNA transportador (RNAt) iniciador, com seu aminoácido associado: metionina. Nesse momento, a subunidade ribossômica grande se liga ao complexo inicial, e um segundo peptidil-RNAt (RNAt associado a um aminoácido) se liga ao sítio A. Uma ligação peptídica, com a formação de pontes de hidrogênio e liberação de uma molécula de água, é estabelecida entre os dois aminoácidos carreados pelo RNAt. O sítio P do ribossomo deixa, então, "escapar" o RNAt iniciador, e o RNAt que ocupava o sítio A se move para o sítio P vago. O ribossomo move-se um códon abaixo do RNAm, de modo que o próximo códon é posicionado no sítio A. Esse mecanismo se repete inúmeras vezes, enquanto o ribossomo se move ao longo da cadeia de RNAm, na direção 5' → 3', proporcionando o alongamento da cadeia proteica. A síntese de polipeptídios continua até que o ribossomo encontre um códon de terminação, o qual determina o fim da síntese proteica e a liberação

da nova cadeia de polipeptídios. Uma vez que a síntese é completada, as duas subunidades ribossômicas se dissociam do RNAm e retornam ao citosol.

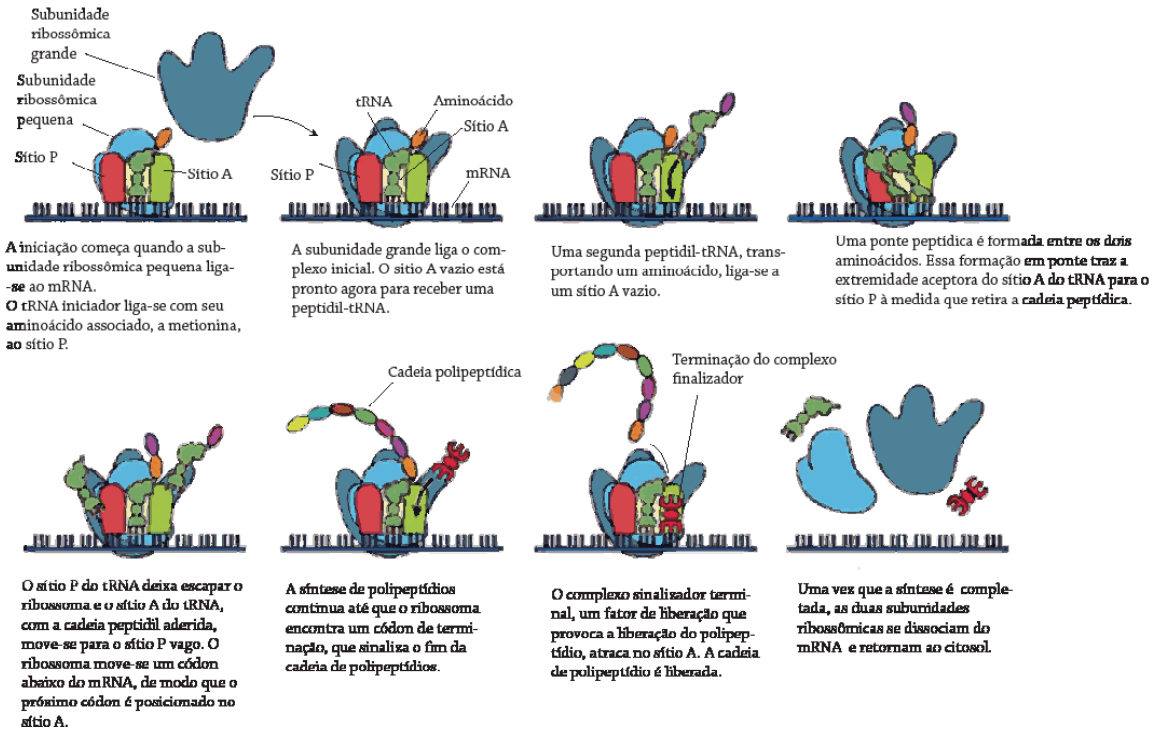


Figura 1 – A síntese proteica no citoplasma

Regulação da síntese proteica

A síntese de proteínas pode ser dividida em três etapas: iniciação, alongamento e terminação. A *etapa de iniciação* é regulada por proteínas citosólicas, denominadas fatores de iniciação (IF). Os IF-2, IF-3 e IF-4 agem no reconhecimento do RNAm pela subunidade menor do ribossomo e sua ligação ao RNAm. Um outro fator de iniciação, IF-5, medeia a ligação das duas subunidades ribossômicas no RNAm, ao final da etapa de iniciação, após o desligamento dos outros IFs.

A *etapa de alongamento* começa quando o segundo peptidil-RNAt se aproxima do sítio A do ribossomo, se unindo ao RNAm. Essa reação é mediada por um fator de alongamento, chamado EF-1, e consome energia, que é fornecida por GTP. Um outro fator de alongamento, EF-2, é responsável pela translocação, isto é, o deslocamento do ribossomo pelo RNAm. A *etapa de terminação* determina a conclusão da síntese da proteína, quando o ribossomo atinge o códon de terminação (UAA, UGA ou UAG). Isso faz com que o sítio A seja ocupado por um fator de terminação: *eRF-1*, impedindo a ligação de um outro RNAt. Depois disso ocorre o desprendimento do polipeptídeo, que depende do *eRF-3*, outro fator de terminação.

A ligação de polirribossomos à superfície citosólica do RER é feita por meio de proteínas integrais: a partícula que liga o peptídeo sinal da proteína nascente, as riboforinas que aderem o ribossomo e a proteína do poro, por onde passa o peptídeo nascente para a cisterna do RER. A presença de polirribossomos no RER possibilita sua função: síntese de proteínas. Por isso ele é tão desenvolvido em células com intensa síntese proteica, destinadas à exportação ou a organelas com membrana. Além disso, o RER também participa de modificações pós-traducionais proteicas: sulfatação, pregueamento e glicosilação.

A síntese proteica no retículo endoplasmático rugoso

A síntese, ou tradução proteica, é um processo que requer um filamento de RNAm, RNAs transportadores e subunidades ribossômicas. As subunidades ribossômicas associam-se ao RNAm, formando o polirribossoma, estrutura composta de uma fita de RNAm e de cerca de 15 ribossomos aderidos, que possibilita a síntese de um grande número de moléculas proteicas simultaneamente. A constituição da proteína sintetizada depende diretamente do código genético, revelado no RNA pela sequência de códons. Esses são trincas (tríplets) de nucleotídeos que se relacionam especificamente com os 20 aminoácidos usados na síntese de proteínas. O número de códons na fita de RNAm determina o tamanho da proteína. Existem, ao todo, 64 códons. Como existem mais códons (64) que aminoácidos (20), quase todos os aminoácidos podem ser reconhecidos por mais de um códon, isso porque algumas trincas de nucleotídeos atuam como sinônimos.

O local onde ocorre a síntese proteica está relacionado com o destino da proteína produzida.

Síntese de proteínas destinadas ao RER

As primeiras etapas da síntese de uma proteína ocorrem sempre em ribossomas livres no citosol, mesmo se ela for destinada ao RER. A ligação do ribossoma ao RER se dá logo após o início da tradução, quando emerge, da proteína em construção, um peptídeo sinal. Esse direciona e possibilita, mediante de sua ligação à partícula de reconhecimento do sinal, a união do complexo ribossomo-proteína ao RER. Dessa forma, toda proteína que contém um peptídeo sinal é liberada na luz do RER, depois de concluída a sua síntese.

As proteínas destinadas à inserção na membrana do RER também possuem sinais específicos. Além do peptídeo sinal, possuem um ou mais sinais adicionais, que possibilitam, por exemplo, sua ancoragem na membrana. De acordo com a natureza da proteína, ela permanecerá na membrana do RER, ou passará, através do sistema de vesículas, a outra organela (CG, endossoma) ou à MP. Um peptídio

sinal, pequena sequência de aminoácidos na porção N-terminal ou C-terminal da proteína, vai endereçar a proteína a diferentes locais das células.

Assim, proteínas destinadas ao núcleo celular, às mitocôndrias e aos peroxissomos são sintetizadas em polirribossomas livres. As proteínas que precisam ser empacotadas e enviadas para fora da célula (proteínas da membrana plasmática ou que constituirão o conteúdo dos lisossomos e de outros componentes do sistema de endomembranas) serão sintetizadas no RER.

As chaperoninas são monômeros que se associam entre si, formando uma estrutura tridimensional denominada chaperona. Cada chaperona possui um compartimento central, que acomoda a proteína recém-sintetizada, impedindo que esta tenha um dobramento prematuro e de forma inadequada. Assim, as chaperonas ajudam as proteínas a se moldar, associar a outras proteínas de maneira estável e tornarem-se estruturas ativas, evitando a associação de proteínas ainda não dobradas corretamente. Também atuam ativamente, com hidrólise de ATP e modificação conformacional de algumas proteínas. Existem diferentes famílias proteicas de chaperonas, como a *hsp 70* e *hsp 60*. Elas têm este nome (*hsp = heat shock protein*) porque são sintetizadas em grande quantidade quando a célula é submetida a altas temperaturas (> 42°C) e situações de estresse metabólico, quando a maioria das proteínas celulares são desnaturadas. Em tais circunstâncias, as chaperonas agem facilitando a renaturação proteica. Essas famílias se diferem entre as organelas celulares. As hsp 70 mitocondriais, por exemplo, são diferentes das do citosol. No RER uma hsp 70 especial (BIP) ajuda a dobrar as proteínas nesse compartimento.

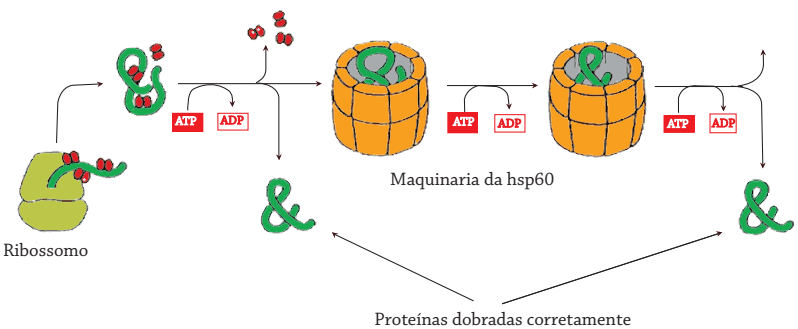


Figura 2 – As chaperoninas hps 70 e hps 60 (hps = *heat shock proteins*, ou proteínas de choque térmico) ajudam a dobrar os peptídios nascentes e montar a estrutura terciária das proteínas. Algumas chaperoninas realizam mudanças cotraducionais e outras pós-traducionais. Esse dobramento das proteínas expõe resíduos suscetíveis a outras modificações químicas, como a hidroxilação (OH), a fosforilação (PO4) e a sulfatação (SO4)

Para cada proteína, especificamente, existem reações importantes "pós-traducionais", que concluem sua moldagem e a tornam pronta estrutural e funcionalmente. Essas reações ocorrem no interior do complexo de Golgi, nas suas regiões *Cis*, *Mediana* e *Trans* (ver aula

de sistemas de endomembranas). As principais modificações pós-traducionais realizadas no CG estão listadas a seguir:

CIS	Remoção de manoses Fosforilação de manoses
MEDIANA	Remoção de manoses Glicosilação terminal
TRANS	Sulfatação e fosforilação de aminoácidos

Endereçamento de proteínas

Os itinerários seguidos pelas proteínas dependem de certos sinais em suas moléculas e de receptores específicos distribuídos nos locais por onde elas passam. É isso que faz, por exemplo, uma enzima hidrolítica, recém-sintetizada, se dirigir ao endossoma e não à superfície celular. O quadro abaixo apresenta alguns sinais envolvidos no transporte de proteínas pelo sistema de endomembranas:

Sinal	Transporte
KDEL KKXX	Do RER para o complexo de Golgi e retorno ao RER
GPI	Do complexo de Golgi para a membrana plasmática (secreção)
Manose-6-fosfato Várias L e Y	Do complexo de Golgi para os lisossomos (enzimas hidrolíticas)
YQRL NPXY	Da membrana plasmática para os endossomas (endocitose)

D: ácido aspártico; E: ácido glutâmico; K: leucina; N: asparagina; P: prolina; Q: glutamina; R: arginina; Y: tirosina; X: qualquer aminoácido; GPI: glicosilfosfatidilinositol

Tipos de secreção: merócrina, apócrina e holócrina, endócrina, autócrina e parácrina

A SÍNTESE DE FOSFOLIPÍDIOS

A síntese de fosfolipídios ocorre associada à membrana do retículo endoplasmático liso (Figura 3). Essa síntese permite o crescimento celular após a mitose para que a relação entre superfície e volume celular possa ser adequada. Nas células em intérfase, maduras ou já diferenciadas, existe um trânsito de membranas entre as organelas, principalmente no sistema de endomembranas, o que será abordado na aula específica.

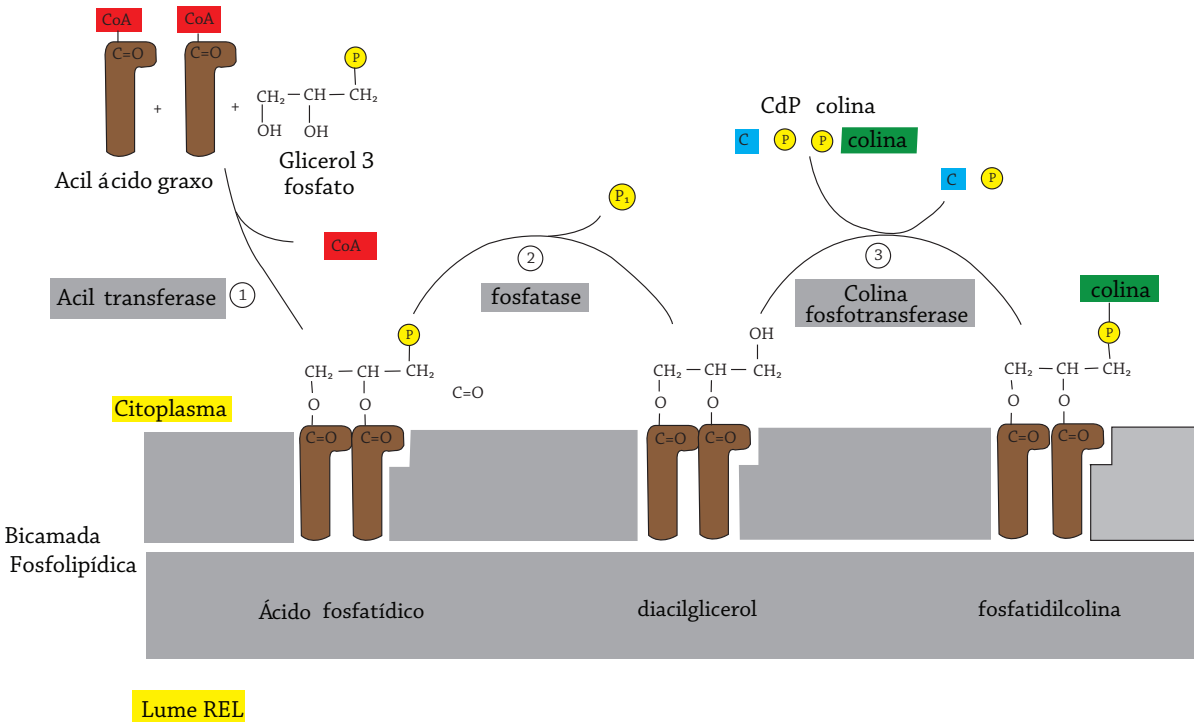


Figura 3 – Síntese de fosfolipídios associada à membrana do REL

AS RESERVAS ENERGÉTICAS NAS CÉLULAS: CARBOIDRATOS E LIPÍDIOS

A síntese e a degradação do glicogênio, o polímero da glicose em ligações 1-6, em células do músculo estriado e dos hepatócitos, ocorrem associados ao REL.

A produção de hormônios

A produção de hormônios derivados de lipídios ocorre associada ao REL.

Degradação pela via citossólica: os proteossomos

O Prêmio Nobel em Química de 2004 foi concedido a Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose por sua participação na descoberta de um sistema para a degradação de proteínas reguladas: o sistema ubiquitina-proteassoma.

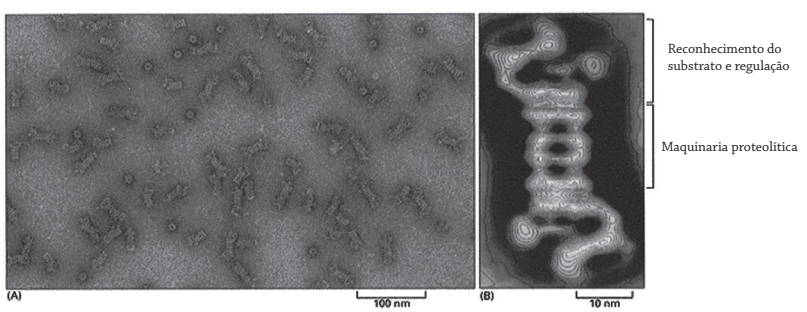


Figura 4 – Proteossomos em micrografia eletrônica

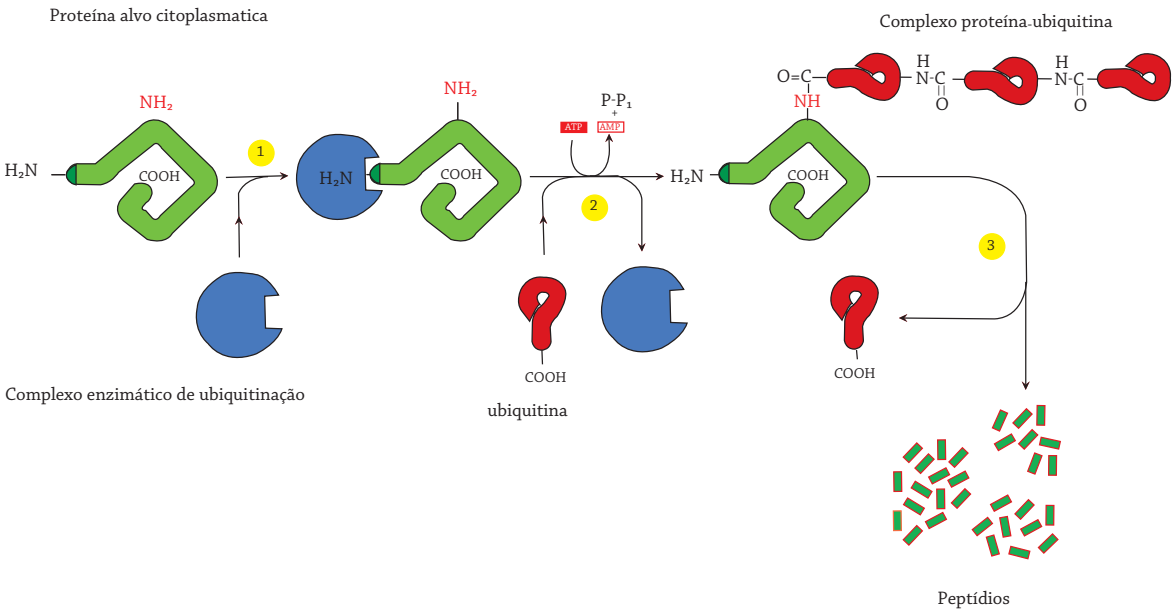


Figura 5 – Esquema da degradação proteica pelo via ubiquitina-proteossomo

Degradação pela via endocítica: lisossomos e endossomos

A via endocítica foi apresentada na aula de sistemas de endomembranas.

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Visite o site do Prêmio Nobel e confira a premiação de 2005: <http://nobelprize.org/>.

LEITURA COMPLEMENTAR

CIECHANOVER, A. Proteolysis: from the lysosome to ubiquitin and the proteasome. *Nature Rev. Mol. Cell Biol*, 6, p. 79-87, 2005. As características morfológicas das células variam de acordo com a natureza das substâncias produzidas e seu destino. Veja no quadro a seguir alguns exemplos:

Exemplos de células especializadas em síntese		
Célula	**Função principal**	**Características morfológicas**
Eritroblasto	Produção ativa de proteínas citosólicas (hemoglobina para transporte de O_2)	- Citoplasma ocupado, em grande parte, por polirribossomas livres - Núcleo denso
Plasmócito	Secreção ativa de glicoproteínas: as imunoglobulinas ou anticorpos	- Núcleo vesiculoso - Grande volume de RER com cisternas dilatadas - Complexo de Golgi desenvolvido
Eosinófilo	Síntese de proteínas estocadas em grânulos citoplasmáticos	- Núcleo vesiculoso - Citoplasma preenchido por grânulos de armazenamento
Célula acinosa do pâncreas	Síntese e acúmulo de enzimas digestivas, posteriormente secretadas por exocitose	- Preenchida por grânulos de enzimas inativas (zimogênio) - Região basal rica em RER
Célula secretora de hormônios esteroides	Produção de moléculas lipossolúveis	-Grande volume de REL, mitocôndrias com cristas tubulares
Células caliciformes intestinais	Produção de muco glicoproteico	- Núcleo basal - Ápice preenchido por grânulos de glicoproteínas - Grande volume de C. Golgi e RER

Observação de tipos diferentes de células em fotomicrografias eletrônicas (eritroblasto, célula de ácino pancreático, granulócitos, plasmócito). Observações das glândulas: pâncreas, salivar submandibular, esofágicas, do intestino grosso.

AUTOAVALIAÇÃO

- Descreva os passos da síntese de proteínas destinadas ao citoplasma.
- Descreva as etapas da síntese proteica no RER.
- Descreva as principais vias de degradação de proteínas nas células.
- Identifique as organelas responsáveis pela síntese e degradação de lipídios, carboidratos hormônios esteroides.

AULA 11

O sistema de endomembranas I: retículo endoplasmático rugoso, retículo endoplasmático liso e complexo de Golgi

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos

- Relacionar a membrana plasmática às organelas membranares citoplasmáticas.
- Conhecer as particularidades do retículo endoplasmático liso e rugoso, do complexo de Golgi e vesículas transportadoras e relacioná-las às funções dessas organelas.
- Compreender a distribuição e abundância dessas organelas em células especializadas na síntese de diferentes macromoléculas.

O SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS

O sistema de endomembranas é composto por cisternas, vesículas, sáculos e tubos que se comunicam entre si diretamente ou através de vesículas transportadoras. Na verdade, esse sistema separa o compartimento citoplasmático ou citosólico do compartimento luminal. Existe uma continuidade entre o lúmen das cisternas e vesículas com o meio extracelular, o que é ainda mais evidente em uma célula secretora (Figura 1).

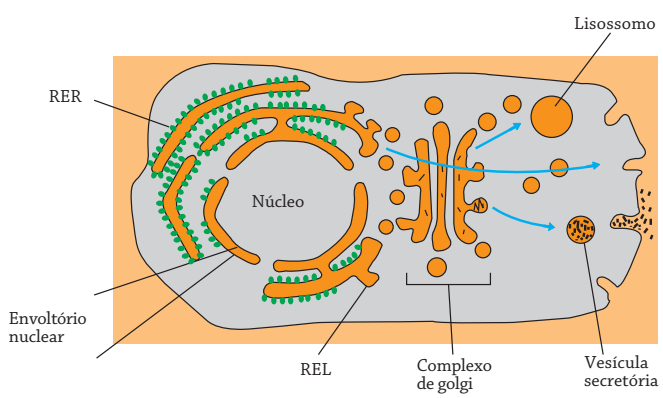


Figura 1 – Continuidade dos compartimentos celulares e o meio extracelular

As organelas que formam o sistema de endomembranas são o retículo endoplasmático rugoso (RER), o retículo endoplasmático liso (REL), o complexo de Golgi (CG ou simplesmente Golgi) e as vesículas transportadoras. Cada um desses subcompartimentos apresenta proteínas na membrana, que conferem uma identidade molecular à organela dentro da célula. Isso determinará, por exemplo, a possibilidade de fusão com vesículas que fazem a comunicação entre esses compartimentos. O compartimento luminal das vesículas e demais subcompartimentos possui a porção glicosilada das proteínas transmembranares e os conteúdos característicos de cada subcompartimento.

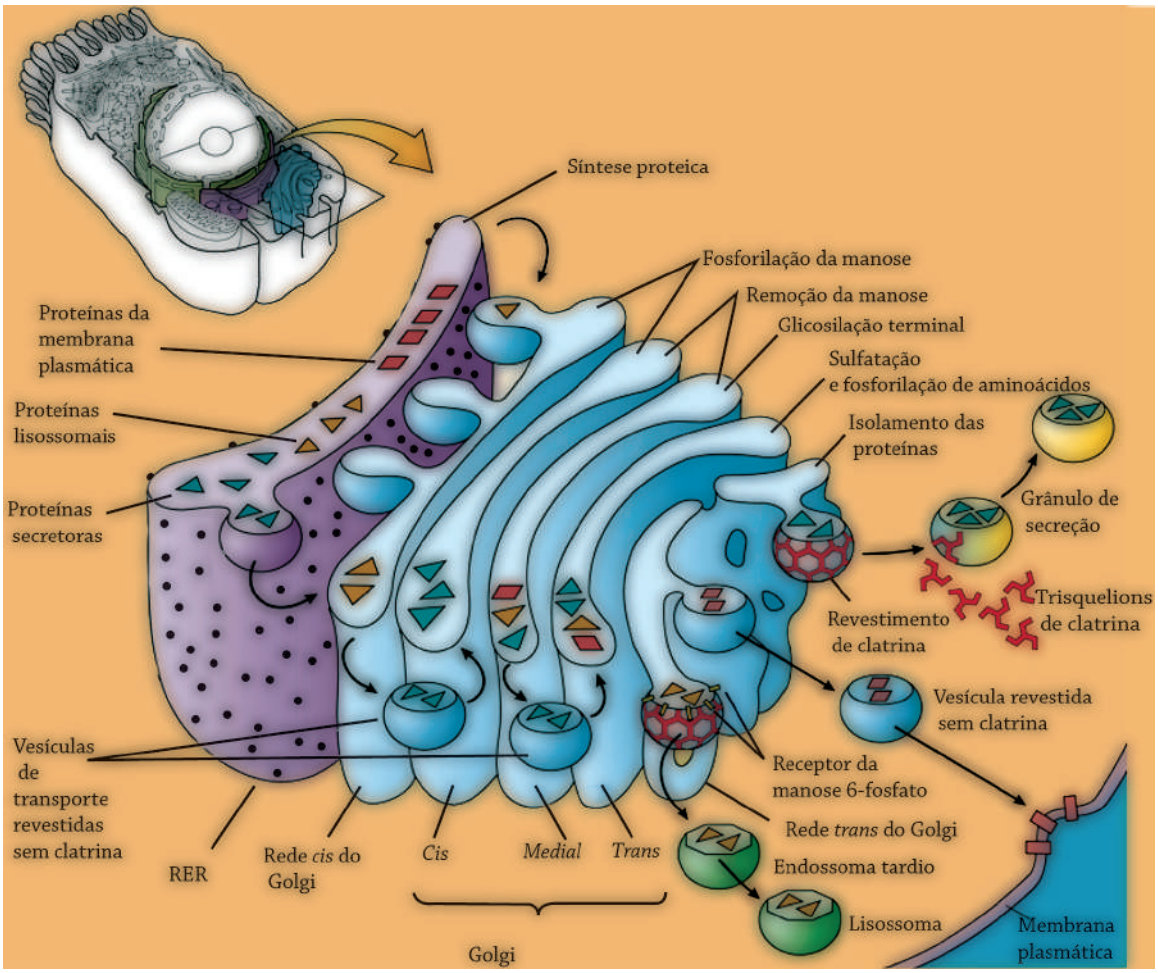


Figura 2 – Esquema de parte do sistema de endomembranas

Veremos, a seguir, as características especiais das organelas que formam o sistema de endomembranas e o que permite a cada uma delas exercerem suas funções específicas.

O RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO RUGOSO (RER)

O **envoltório nuclear**, constituído de duas unidades de membrana, está em continuidade com o **retículo endoplasmático rugoso**. Uma das proteínas que caracteriza a membrana interna do envoltório nuclear é a lamina, que, quando polimerizada, forma a lâmina nuclear, parte do nucleoesqueleto. O **RER** é composto por uma rede tridimensional de túbulos e cisternas interconectados, que vai desde a membrana nuclear (a cisterna do RE é contínua com a cisterna perinuclear) até a membrana plasmática (Figura 3).

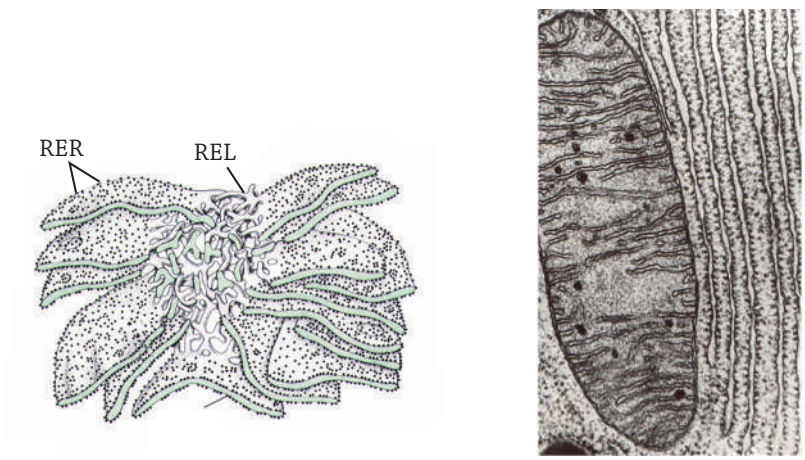


Figura 3 – O esquema de continuidade entre o RER e o REL. Fotomicrografia eletrônica de transmissão destaca o RER e uma mitocôndria

O RER, que possui polirribossomos aderidos à face citosólica, é contínuo com o REL, que, além de não possuir polirribossomos aderidos, apresenta diferente composição proteica em sua membrana e em suas cisternas.

O que há de especial no RER que permite a sua função? Primeiro, a sua membrana possui receptores de ribossomos e proteínas que formam poros para passagem de peptídeos para dentro da cisterna do RER (Figura 4).

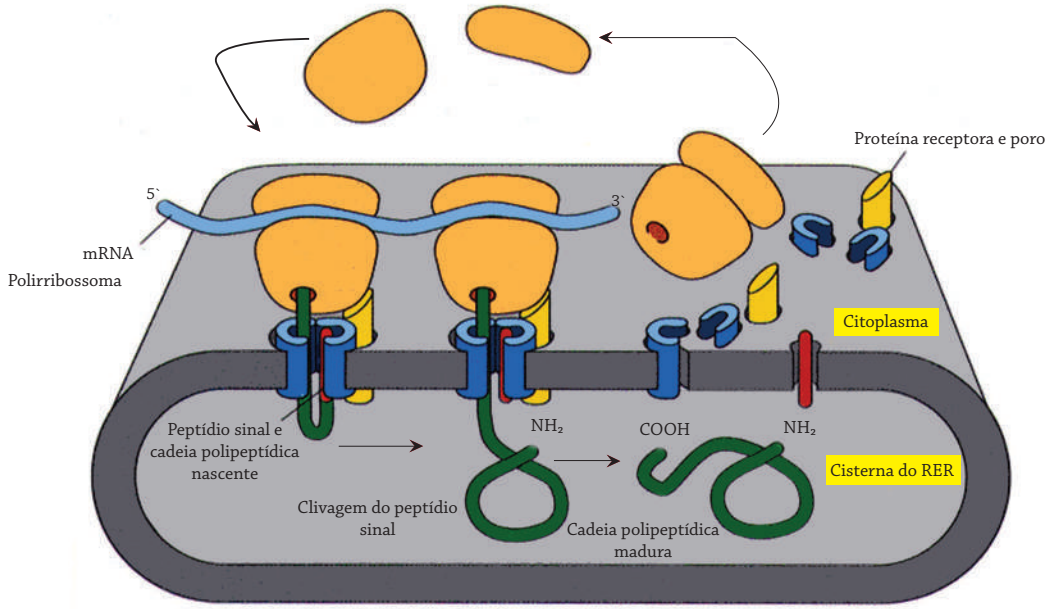


Figura 4 – Síntese proteica associada ao RER

Nas cisternas do RER as chaperoninas recebem e dobram os peptídios nascentes no RER (ver aula de síntese e degradação), enquanto enzimas clivam o peptídio sinal e iniciam as modificações pós-traducionais nas proteínas, como a adição inicial de carboidratos.

A partir do retículo endoplasmático rugoso, vesículas contendo as proteínas sintetizadas, mas sem ribossomos aderidos, são transportadas para o complexo de Golgi. Essas vesículas se fundem com a membrana do Golgi e expõem as proteínas sintetizadas ao "novo" ambiente. Vocês já pensaram o que aconteceria com o RER se esse processo fosse contínuo?



O COMPLEXO DE GOLGI

Camillo Golgi (1843-1926) foi agraciado com o prêmio Nobel em 1906, junto com Santiago Ramon & Cajal, outro estudioso do sistema nervoso. Golgi criou uma metodologia de impregnação pela prata para estudar os prolongamentos das células nervosas, que mudou os rumos da concepção do tecido nervoso. Usando a mesma técnica, Golgi descreveu, em 1898, um "aparelho reticular interno" presente no citoplasma de neurônios, organela que foi, muito mais tarde, denominada complexo de Golgi. Embora essa descoberta tenha sido um grande marco na Biologia Celular, sua existência foi debatida por mais de 50 anos, até sua visualização, por meio do microscópio eletrônico. Viste o site do Prêmio Nobel: <http://nobelprize.org/>.

Complexo de Golgi é um sistema de cisternas achatadas e ligeiramente curvas, que se situam entre o RER e a membrana plasmática. O Golgi

possui uma **face cis** (convexa), voltada para o núcleo, e uma **face trans** (côncava), voltada para a membrana plasmática. Entre elas estão as cisternas **medianas**. Nos vegetais, o complexo de Golgi é fracionado em várias subunidades, sendo cada uma delas denominada dictiossomo. A Figura 6 mostra um esquema do complexo de Golgi ao lado de uma micrografia eletrônica de transmissão da organela.

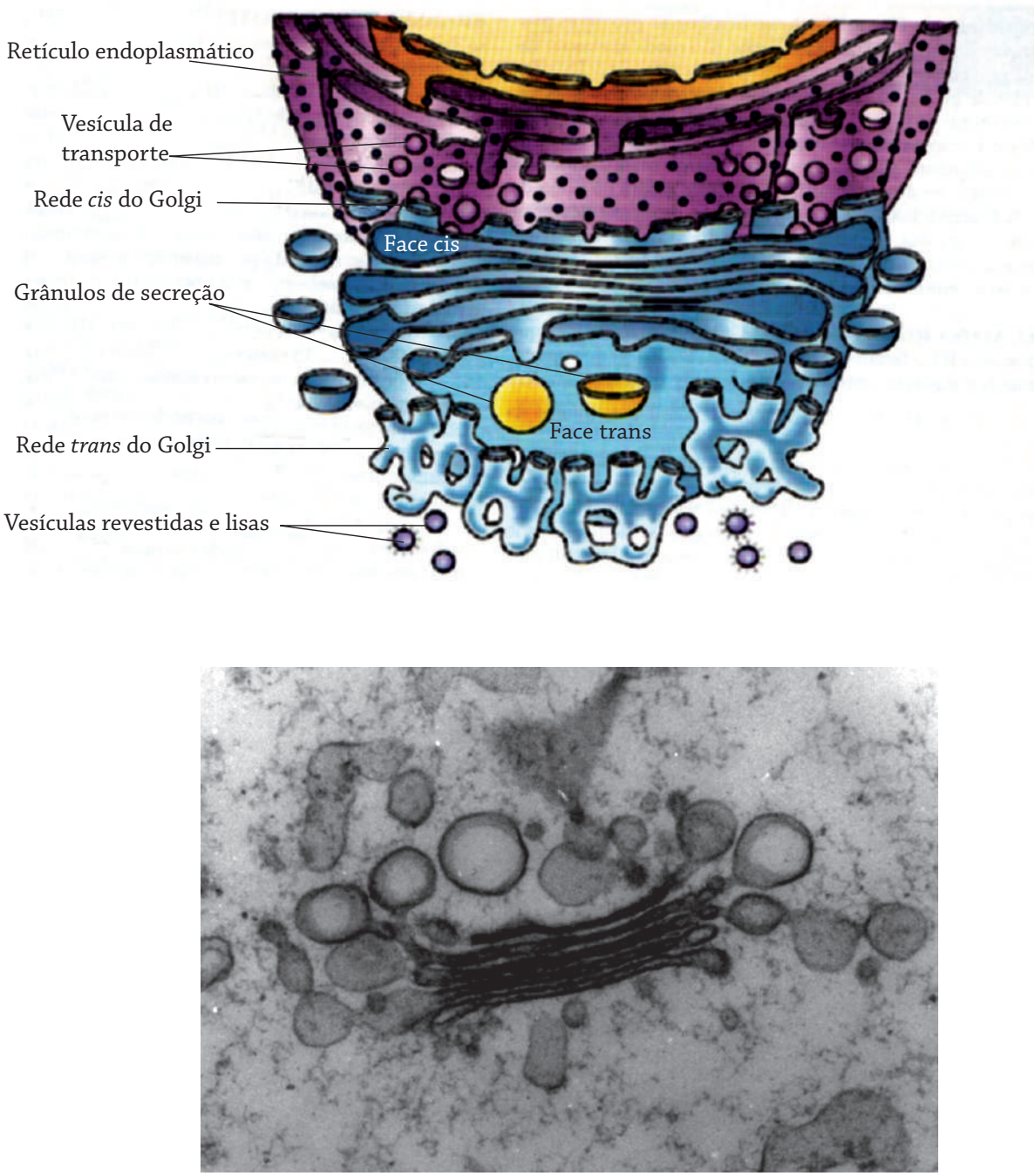


Figura 5 – Complexo de Golgi em esquema e em micrografia eletrônica de transmissão

As proteínas chegam à face **cis** do Golgi pela incorporação de vesículas de transporte, advindas do RER. Nas cisternas da face cis estão presentes enzimas que promovem a remoção das manoses, adicionadas às proteínas ainda no RER. Daí migram, também, através de vesículas transportadoras, para as **cisternas medianas**, formadas por sáculos empilhados que contêm as enzimas capazes de adicionar diferentes tipos de resíduos de açúcares às proteínas, ou seja, onde ocorre a maior parte da glicosilação das proteínas. O trans-Golgi é o local onde modificações finais, como a sulfatação e a fosforilação das proteínas, podem ocorrer. A partir dessas modificações, as proteínas serão segregadas em vesículas que brotam da face trans do Golgi. De acordo com seu conteúdo e proteínas de membrana associadas, essas vesículas podem ir para a membrana plasmática, podem formar os lisossomos ou podem retornar ao próprio Golgi ou ao RER. Enzimas associadas à membrana do CG concentram e **endereçam** – bioquimicamente – essas proteínas para os diferentes compartimentos membranares. Assim, vesículas contendo as hidrolases ácidas, que formarão os lisossomos, expressarão em suas membranas o receptor de manose-6-fosfato. Por outro lado, proteínas como as chaperoninas do RER, que sofreram modificações no Golgi, retornam para o RER através de vesículas especialmente direcionadas a essa organela. O próprio Golgi receberá vesículas contendo as enzimas que permitem a glicosilação terminal, a fosforilação ou sulfatação de proteínas nas cisternas medianas e trans.

VESÍCULAS TRANSPORTADORAS

As vesículas transportadoras são as organelas do sistema de endomembranas que permitem o trânsito de substâncias entre os subcompartimentos celulares. Vesículas podem brotar dos diferentes compartimentos, revestidas por proteínas como a **clatrina** (ver micropinocitose) ou como os complexos **COPI** ou **COPII** (obs.: o nome COP ou coatômero vem do inglês *coat*, recobrir, proteína de cobertura) no lado citoplasmático. Vesículas brotam do trans-Golgi ou da membrana plasmática por micropinocitose por meio da polimerização de triesquélions de clatrina, que se polimerizam, induzindo, na face citosólica da membrana, a força mecânica que provoca a sua invaginação. Inicialmente, forma-se uma fosseta, que, em seguida, se converte em uma vesícula, a qual se destaca e é liberada no citosol (Figura 2). As adaptinas são proteínas que regulam a ligação da clatrina.

As moléculas COPII recobrem as vesículas que brotam do RER e se direcionam ao cis-Golgi. Vesículas que transitam entre as cisternas do Golgi são recobertas com COPI. A associação do COP às vesículas depende de um fator ARF (fator de ribosilação do ADP). A hidrólise de GTP para GDP dissocia o complexo que recobre a vesícula.

Outras proteínas que se conectam com o domínio citosólico de cada vesícula (por exemplo: manose-6-fosfato na membrana de lisossomos) direcionarão vesículas aos diferentes compartimentos. Proteínas motoras podem se associar às vesículas e transportá-las através dos microtúbulos em direção ao centrossoma (dineína) ou em direção contrária (cinesina). Na periferia da célula, as vesículas podem ser transportadas pela miosina I por meio dos microfilamentos de actina.

A fusão de uma vesícula transportadora com a organela-alvo envolve o processo de reconhecimento mediado por proteínas SNARE, e, depois, a fusão da vesícula com a organela, mediada por duas proteínas: a proteína de fusão sensível à N-etilmaleimida (NSF) e as proteínas SNAP (proteínas de adesão solúveis em NSF).

RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO LISO (REL)

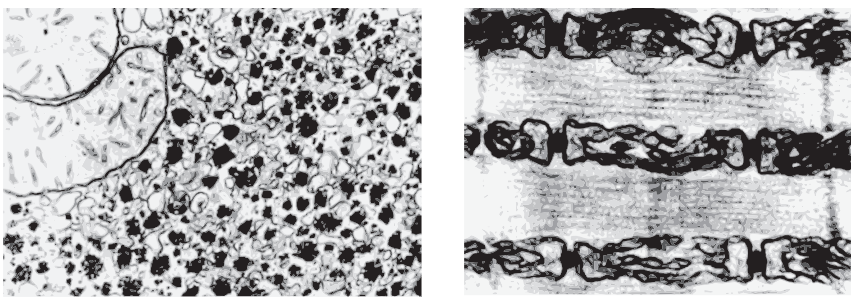
A síntese de fosfolípides para as membranas celulares é feita por proteínas integrais da membrana do REL e dos peroxissomos (descritos mais adiante). Algumas moléculas de fosfolipídios, depois de sintetizadas pelas enzimas do REL, são completadas no CG. Só então atingem as membranas celulares. O transporte dos fosfolípides às membranas celulares é feito através de vesículas transportadoras ou por proteínas transportadoras especiais, que atravessam o citosol, translocando o fosfolípide, sempre, de uma membrana rica em fosfolípide (REL) para outra (por exemplo: peroxissomo), pobre em fosfolípides. Durante esse transporte, as moléculas de fosfolípides sofrem inúmeras alterações, o que explica a diferente composição lipídica das diversas membranas celulares.

A produção de hormônios esteroides nas células gonadais e suprarrenais inicia-se com a captação do colesterol do meio extracelular. O colesterol é, então, transportado até a mitocôndria, onde é convertido em pregnenolona. Essa sai da mitocôndria e penetra no REL, onde continua seu metabolismo por meio de diversas enzimas que atuam sequencialmente, para formar a desoxicorticosterona, o desoxicortisol e o andrógeno androstenediona. O desoxicorticosterona e o desoxicortisol retornam à mitocôndria, onde serão convertidos, respectivamente, em corticosterona e cortisol. Posteriormente, a corticosterona, nas células da zona glomerulosa da suprarrenal, é convertida no mineralocorticoide aldosterona.

As células que possuem REL mais desenvolvido realizam intensa atividade de síntese de esteroides, colesterol e triglicérides, armazenam glicogênio ou possuem atividade de desintoxicação (exemplo: hepatócito). As enzimas necessárias ao metabolismo de lipídios e açúcares estão associadas à membrana do REL ou ao seu lume.

Outra função muito importante do REL é o controle do Ca^{2+} intracelular. Emilio Veratti (1872-1967), que trabalhava no laboratório

de Golgi, descreveu, pela primeira vez, o retículo sarcoplasmático (o REL do músculo estriado esquelético). Nas fibras musculares estriadas, onde a liberação de Ca^{2+} para o citosol é essencial para a contração das miofibrilas, mecanismos ativos de transporte associados à membrana do REL possibilitam a rápida movimentação do Ca^{2+} para fora e para dentro de suas cisternas.



a b

Figura 6 – a) Retículo endoplasmático liso em hepatócito. Observe a proximidade dos grânulos de glicogênio com as vesículas do REL; b) Retículo sarcoplasmático no músculo estriado esquelético

O trânsito de vesículas entre os compartimentos do sistema de endomembranas mantém o volume relativo de cada organela nos diferentes tipos celulares.

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Compare as fotos de células produtoras de proteínas para exportação, como o plasmócito, e de células que armazenam proteínas, como os eritroblastos, ou precursores de eritrócitos. Que organelas predominam no citoplasma dessas células?

As células das glândulas, associadas ao tubo digestivo, produzem as enzimas digestivas e muco. Quais organelas vocês acham que predominam nas células que produzem as enzimas? Procure observar lâminas ou fotos de lâminas das glândulas salivares submandibular e parótidas. Observe também a lâmina do pâncreas.

Observe a fotomicrografia de um hepatócito. Que funções você acredita que essa célula pode exercer?

Acesse pela Internet o *site* dos prêmios Nobel, especificamente a de Camillo Golgi, que dividiu o Nobel, em 1906, com ninguém menos que Santiago Ramón & Cajal, por seus trabalhos sobre a estrutura do sistema nervoso. Endereço do *site*: <http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/golgi-bio.html>.

O endereço de site em inglês é muito bom para complementar a literatura citada: complexo de Golgi: <http://cellbio.utmb.edu/cellbio/GOLGI.HTM>.

AUTOAVALIAÇÃO

- O que permite a rugosidade do retículo endoplasmático rugoso?
- Quais as quatro principais funções do retículo endoplasmático liso?
- O que permite ao retículo endoplasmático liso exercer suas funções?
- Quais as diferenças entre as cisternas cis, mediana e trans do complexo de Golgi?
- Por que o retículo endoplasmático não se extingue após a liberação de vesículas transportadoras que irão se fundir com as cisternas do cis-Golgi?

AULA 12

O sistema de endomembranas II: lisossomos, peroxissomos, vacúolos e a via endocítica

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos

- Relacionar a membrana plasmática às organelas membranares citoplasmáticas.
- Conhecer as particularidades dos lisossomos, dos peroxissomos, dos microssomos e da via endocítica.
- Compreender a distribuição e abundância dessas organelas em células.

OS LISOSSOMOS

Os lisossomos são organelas relacionadas à digestão celular produzidas pelo complexo de Golgi. As hidrolases ácidas, enzimas que hidrolizam proteínas e carbohidratos em pH baixo, são produzidas no RER, modificadas no Golgi e concentradas em vesículas que brotam da face trans-Golgi e migram em direção à membrana plasmática, sem, no entanto, se fundirem com ela. Assim, essas vesículas, os lisossomos, contendo as hidrolases ácidas, expressarão em suas membranas o receptor de manose-6-fosfato. A polimerização da clatrina na face citossólica provoca a formação de uma fosseta, que, em seguida, se converte em uma vesícula, que se destaca e é liberada no citosol. Na face luminal do lisossomo, a abundância de glicoproteínas protege a organela do efeito das enzimas hidrolíticas. Além disso, as principais enzimas presentes nos lisossomos, proteases e hidrolases, são ativadas quando o pH se torna acídico. A membrana dos lisossomos apresenta bombas de prótons (H^+) dependentes de ATP, que, quando ativadas, diminuem o pH dentro dos lisossomos.



Figura 1 – Lisossomos

Proteínas transmembranares lisossomais transportam aminoácidos, açúcares e nucleotídios resultantes da digestão de substâncias em lisossomos secundários, isto é, que já se fundiram com um endossomo (ver via endocítica a seguir).

PEROXISSOMOS E MICROSSOMOS

Os **peroxissomos** são organelas com cerca de 0,6mm de diâmetro, envoltas por uma unidade de membrana. Como os microssomos, são considerados organelas especializadas do REL. Eles contêm várias enzimas produzidas em polirribossomos livres e transferidas para dentro da organela através de receptores específicos para a sequência Ser-Lys-Leu. Dentre várias reações que ocorrem nos peroxissomos, destacam-se a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água, a oxidação de ácidos graxos, ácido úrico e aminoácidos, mediados pela **catalase**. No fígado, os peroxissomos participam da biossíntese de lipídios como o colesterol, dos ácidos biliares dele derivados e de fosfolipídios que fazem parte da membrana de células do coração e do sistema nervoso. Dentre as enzimas dos peroxissomos, destacam-se a **superóxido dismutase** (faz H_2O_2), a **urato oxidase**, a D-aminoácido oxidase e enzimas da ß-oxidação de ácidos graxos.

Os peroxissomos se autoduplicam, apesar de não conterem DNA como as mitocôndrias.



Figura 2 – Peroxissomos em hepatócitos

Os **microssomos**, abundantes nos hepatócitos, são regiões especiais do REL, onde ocorre a concentração de enzimas envolvidas na oxidação de etanol e de outras drogas. As drogas, esteroides, ácidos graxos não polares e as vitaminas D e A podem ser oxidados com a ajuda do citocromo P450, presente nas mitocôndrias. A metabolização do **etanol** pela via microssômica, em vez da via da desidrogenase alcoólica (que ocorre no citoplasma e nas mitocôndrias), produz acetaldeído e radicais oxigenados em excesso, o que acarreta lesões típicas do alcoolismo crônico nos hepatócitos.

VACÚOLOS

Vacúolos são organelas típicas de células vegetais, são delimitados por uma unidade de membrana e, frequentemente, aparecem como "vazios" ao microscópio de luz. Inicialmente, os vacúolos são pequenos e, à medida que as células expandem, fundem-se formando um grande vacúolo, que pode ocupar até 90% do volume da célula. Por armazenar uma solução salina, os vacúolos têm a propriedade de expandir e forçar a expansão celular, sendo esta uma de suas funções. Assim, enquanto as células animais têm que sintetizar todo o material protoplasmático para poderem crescer, as células vegetais precisam apenas incorporar água ao vacúolo, gerando pressão contra a parede primária e promovendo a expansão celular. Como a parede primária é plástica, essa expansão e a nova forma adquirida se mantêm e, em muitos casos, a água representa a maior fração da massa fresca de uma célula.

Além de atuar nos processos de expansão celular, os vacúolos desempenham outras funções importantes. Em sementes, por

exemplo, o vacúolo pode funcionar como local de reserva de proteína que será usada por ocasião da germinação.

A estocagem de resíduos metabólicos também é outra função do vacúolo. Nesse caso, compostos tóxicos resultantes do metabolismo celular são armazenados, uma vez que os vegetais não dispõem de um sistema excretor. Assim, quando da queda de uma folha, por exemplo, esses compostos seriam eliminados. Existem controvérsias a respeito do que pode ser considerado resíduo metabólico, já que estudos recentes têm relatado que muitos compostos tidos como não-reaproveitáveis são empregados em rotas biossintéticas, ou são armazenados com uma função de defesa para a planta.

As células vegetais não apresentam lisossomos. Por outro lado, a função de digestão celular fica a cargo do vacúolo. Um exemplo clássico da atuação do vacúolo com função lisossomal é a formação dos elementos condutores de água no xilema; essas células são mortas na maturidade, e o vacúolo, dito autofágico, é a organela responsável pela digestão do protoplasto.

Diversos íons são armazenados no vacúolo e a dinâmica destes na célula é controlada por essa organela. O cálcio, por exemplo, tem no vacúolo um importante sítio de regulação. É comum a formação de cristais de oxalato de cálcio no vacúolo, os quais assumem diferentes formas e inativam parte do cálcio no citosol, controlando, assim, os níveis de cálcio na célula.

Uma importante classe de pigmentos que conferem cor a diversos órgãos vegetais, as antocianinas, é acumulada nos vacúolos. Esses pigmentos conferem cores que variam de róseo a azul intenso, quase negro, e têm a propriedade de alterar cor em função do pH vacuolar.

A VIA ENDOCÍTICA

A **via endocítica** é uma via de incorporação e de degradação de substâncias que entram na célula a partir dos processos de endocitose. Essa via se relaciona com a **via exocítica**, envolvida na secreção de substâncias cercadas por membranas, e com o transporte de membranas para a membrana plasmática. A manutenção da superfície celular é consequência do equilíbrio entre os processos de endocitose e exocitose. Além disso, a via endocítica também se relaciona com o processo de **autofagia**, em que **autofagossomos**, derivados do **REL**, se fundem com lisossomos e digerem organelas da própria célula. Esse processo diminui, por exemplo, o número de mitocôndrias de uma célula, cujo metabolismo foi bastante reduzido.

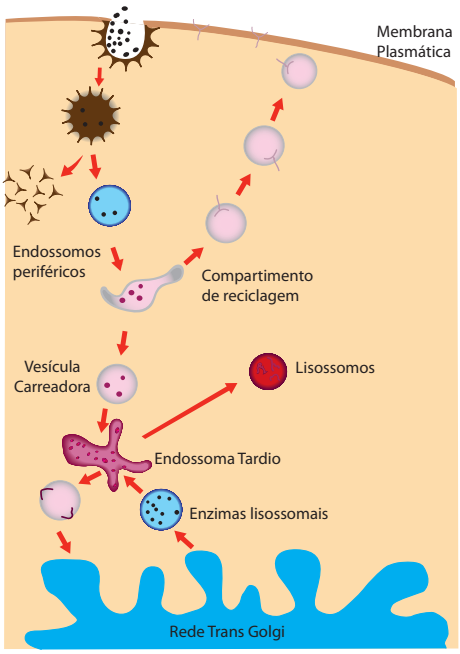


Figura 3 – Esquema da via endocítica

Os **endossomos**, ou vesículas endocíticas, são formados pela membrana plasmática por meio dos processos de endocitose (fagocitose, pinocitose ou micropinocitose) e se localizam entre ela e o complexo de Golgi. Os **endossomos primários** são recém-formados e transitam por meio da trama terminal de microfilamentos de actina em direção ao centro da célula. À medida que penetram pelo citoplasma, várias alterações na composição proteica que reveste a face citoplasmática da membrana ocorrem. Os endossomos revestidos com **clatrina** podem ser transportados pelos microfilamentos de actina. As **caveolinas** revestem outro tipo de vesículas endocítica e apresentam outras formas de regulação.

Os endossomos podem se fundir com os lisossomos, processo que induz a diminuição do pH dentro das vesículas "mistas", ativa as hidrolases ácidas e dá início ao processo de digestão. Forma-se assim um **endossomo tardio** ou **secundário**. Parte da membrana dos endossomos pode ser reciclada de volta para a membrana plasmática, geralmente após a separação do ligante/receptor de membrana que originou o processo de endocitose. Essa reciclagem é importante para repor rapidamente receptores importantes para o funcionamento da célula e para a manutenção da superfície celular. A ativação das bombas de prótons, que transportam H^+ do citoplasma para dentro dos endossomos secundários ou lisossomos tardios, ativa as enzimas lisossomais.

O que for digerido pode ser transportado para o citoplasma por meio de transportadores específicos. O que não é digerido, como a sílica, o alcatrão ou partículas de teflon, permanecerão em vesículas nas células fagocíticas, vesícula chamada então de **corpo residual**.

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Você já pensou o que aconteceria com a membrana de uma célula fagocítica? Como ela poderia conter seu volume? Para que uma célula mantenha sua superfície constante é necessário um equilíbrio entre a quantidade de membrana endocitada e a quantidade de membrana que é reciclada para a membrana ou sintetizada *de novo*. Por outro lado, imagine o que aconteceria com o complexo de Golgi se dele apenas saíssem vesículas para a membrana ou para a formação dos lisossomos. Ele certamente seria reduzido e até deixaria de existir na célula se não houvesse um sistema de retroalimentação, por meio de vesículas que recomporiam as cisternas medianas e a rede cis. Muitas proteínas presentes na cisterna do RER foram sintetizadas nessa organela e depois modificadas no Golgi. Elas voltaram prontas por meio de vesículas transportadas via microtúbulos do trans-Golgi para o RER.

- Pesquise como esse processo de reciclagem da membrana plasmática ocorre em neurônios.
- Pesquise mais sobre a via autofágica.

AUTOAVALIAÇÃO

- Compare os lisossomos e endossomos quanto à origem, atividades e “ciclo de vida”.
- Qual a relação entre microssomos, peroxissomos e o REL?
- Cite os elementos que formam a via endocítica e sua importância nas células fagocíticas.
- Cite algumas funções dos vacúolos.

AULA 13

A sinalização celular

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos
- Conhecer o modo de secreção e de ação das principais moléculas que afetam o metabolismo e a diferenciação celular.
- Compreender as principais vias de sinalização intracelular.
- Relacionar a ativação celular e sua regulação.

MECANISMOS DE SINALIZAÇÃO CELULAR

A interação entre as células com hormônios neurotransmissores e outras células e com a matriz extracelular ocorre, geralmente, por meio de receptores na membrana celular ou dentro da célula. Essa ligação desencadeia uma série de reações na célula, como a liberação de Ca^{2+} do REL, mudanças na concentração de AMP cíclico, a fosforilação e desfosforilação de proteínas e o metabolismo de lipídios importantes. Mediadores secundários são produzidos, podendo ser translocados para o núcleo, ativando ou reprimindo a expressão de diferentes genes. Os mecanismos de sinalização intracelular são bastante conservados, sendo alguns dos mediadores presentes em bactérias e em metazoários.

A comunicação entre as células e a integração dos organismos multicelulares ocorre por meio da sinalização celular. Essa sinalização, quando normal, coordena os processos de diferenciação celular, migração, proliferação, o metabolismo da célula e até seu comportamento. Quando anormal, pode levar à morte ou à proliferação excessiva, como ocorre nos tumores.

MECANISMOS DE SINALIZAÇÃO

Endócrina

A sinalização endócrina ocorre pela ação de um hormônio, produzido por uma célula endócrina que secreta o hormônio na circulação. Esse hormônio pode agir em células distantes da célula que a produziu, desde que ela apresente receptores para ele.

Parácrina

É a sinalização feita por fatores de crescimento, citocinas, ou mediadores produzidos por células vizinhas às células-alvo. Uma sinapse química é um exemplo de ação parácrina.

Autócrina

Refere-se à ação de uma substância na própria célula que a produz. Um exemplo disso é a ação da interleucina-2, um fator de proliferação para linfócitos, produzida por eles mesmos.

Neurotransmissores

A ação de substâncias que transmitem a atividade de neurônios para outras células, os neurotransmissores, liberados nas sinapses químicas, é um tipo particular de ação parácrina.

Neuroendócrina

A sinalização realizada por hormônios produzidos pelas células do tecido nervoso ou por glândulas é um tipo particular de ação endócrina.

MECANISMOS DE AÇÃO DAS MOLÉCULAS SINALIZADORAS

A produção de muitos fatores de crescimento e diferenciação é, muitas vezes, coordenada por mecanismos de *feedback* ou retroalimentação, que aumentam ou diminuem a sua produção. De maneira geral, as moléculas sinalizadoras podem agir em receptores presentes na membrana plasmática ou no citoplasma.

Moléculas hidrofóbicas, como os hormônios esteroides, derivados do colesterol, ou gases, como o óxido nítrico (NO), podem atravessar a bicamada fosfolipídica. Os hormônios esteroides, como o estrogênio, a testosterona, a progesterona, os glicocorticoides e os mineralocorticoides, são transportados na circulação ligados às proteínas. Ao entrarem na célula, podem se ligar a **receptores citoplasmáticos** ou **nucleares**. A vitamina D, que regula a deposição de Ca^{2+}

nos ossos, os retinoides, estes relacionados à vitamina A, e mesmo o hormônio da tireoide apresentam receptores intracelulares.

O óxido nítrico (NO), um gás sintetizado a partir da arginina pela enzima *óxido nítrico sintase*, atua de forma parácrina no sistema nervoso, no sistema imunológico e no circulatório. Apesar de ser uma molécula instável ela age diretamente nas enzimas, regulando sua atividade. Um dos efeitos mais importantes do NO é a dilatação dos vasos sanguíneos.

RECEPTORES DE SUPERFÍCIE

Peptídeos, como a insulina e o glucagon, neuropeptídeos, como as endorfinas e encefalinas, e fatores de crescimento (GF de *growth factor*), como o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), o NGF (fator de crescimento neural), o EGF (fator de crescimento epitelial), e as citocinas apresentam receptores expressos na superfície das células. Muitos desses receptores pertencem a famílias de moléculas com domínios comuns. Alguns neurotransmissores, como a acetilcolina, a dopamina, a serotonina, a histamina, o glutamato, o ácido gama-aminobutírico (GABA), são produzidos em consequência de um potencial de ação. A acetilcolina age em um receptor que forma um canal iônico controlado por ligante. A epinefrina (adrenalina) é um neurotransmissor, mas é também um hormônio produzido pela medula da glândula adrenal.

VIAS DE SINALIZAÇÃO INTRACELULARES

A interação entre a molécula estimuladora e seu receptor é considerada o primeiro sinal em cada via de sinalização. A partir dessa interação, são gerados mensageiros intracelulares, como o AMP cíclico, o diacil glicerol e proteínas fosforiladas.

Para que uma molécula funcione como segundo mensageiro, sua concentração basal na célula é normalmente muito baixa e a concentração em que atua, ou janela de atividade, deve ser restrita. A célula consegue isso por meio de rápida produção ou ativação do segundo mensageiro, seguida, imediatamente, de inativação ou degradação do mesmo. A cada passo da cascata, atividades que se contrabalançam estão presentes. Isso garante que o sistema retorne prontamente ao estado basal de repouso quando o estímulo é removido.

Via dos receptores acoplados à proteína G

A proteína G é um complexo proteico com três subunidades (alfa, beta e gama) ligadas ao nucleotídeo guanidina (GTP ou GDP). As subunidades alfa e gama são peptídeos que ficam ancorados na membrana mediante um grupo lipídico, hidrofóbico. A proteína

G pode ser acoplada a vários receptores celulares. A subunidade alfa, quando ligada a GDP (guanosina difosfato), tem afinidade pelas outras subunidades e mantém desligada a ativação. Quando o receptor é ativado, ele se liga à proteína G heterotrimérica. Esse contato ativa a subunidade alfa, altera a interação com GDP pela interação com GTP e o receptor se desliga do complexo, podendo assim ativar outras moléculas, como canais iônicos. Alguns exemplos de mediadores que sinalizam através de receptores acoplados à proteína G são mostrados na Figura 1.

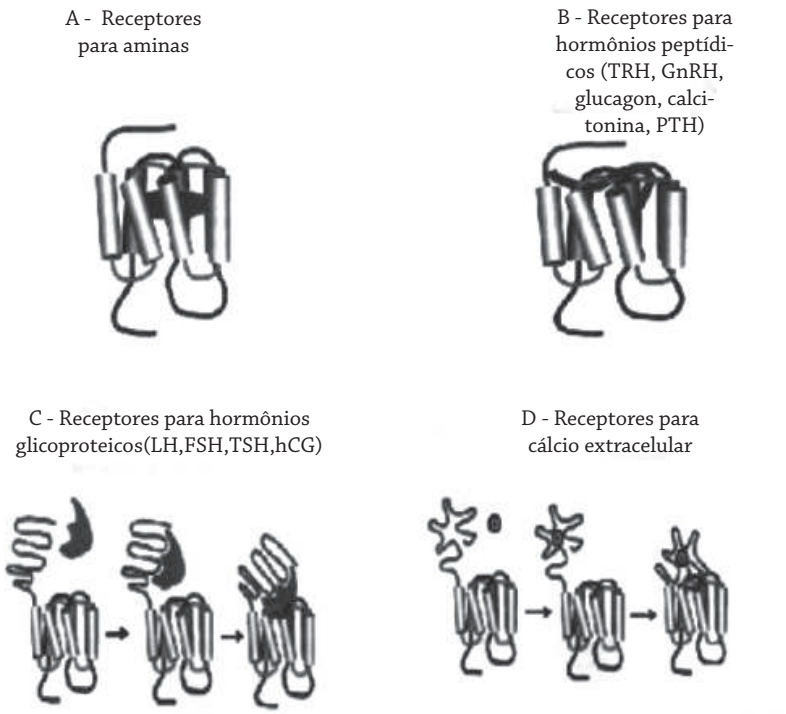


Figura 1 – Exemplos de receptores acoplados à proteína G
Fonte – HAUACHE, Omar M. Receptores acoplados à proteína G: implicações para a fisiologia e doenças endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 45, n. 3, p. 228-239, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302001000300004-&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 13 nov. 2006.

Via das proteínoquinases

Uma quinase é uma proteína que fosforila outra molécula, transferindo um fosfato do ATP para outra molécula. O fosfato vai ser adicionado sempre num grupo – OH. Nas proteínas, os aminoácidos fosforilados pela PKA (proteínoquinase, dependente de AMPc) são serinas ou treoninas. Para serem fosforilados, esses aminoácidos devem estar ao lado de outros aminoácidos específicos (formando uma sequência sinalizadora) para que o sítio de fosforilação seja reconhecido pela enzima.

A atividade das proteínoquinases é contrabalanceada pelas atividades das fosfatases. Um exemplo é a ativação de receptores tirosinas

fosfatases, como o CD45, em linfócitos, que, quando ativados por ligante, desfosforilam proteínas que estão fosforiladas em resíduos de tirosina.

Tirosinoquinases

As tirosinoquinases são proteínoquinases que fosforilam proteínas em resíduos de tirosina (insulina, EGF, NGF, PDGF). A ligação ligante-receptor leva à dimerização e à autofosforilação do receptor. Isso acarreta a ligação da tirosinoquinase e expõe domínios de fosfotirosina, em que se ligam outros mediadores por meio de domínios SH 2 (homólogos a Src 2).

MAP quinases

As MAP quinases apresentam atividade mitogênica, isto é, ativam a proliferação celular. Elas são importantes na ativação da transição entre as fases G1 e S da interfase. A **via JAK-STAT** faz uma conexão entre a via das quinases e a fosforilação de **fatores de transcrição**, que atuarão reprimindo ou ativando genes.

Via fosfolipase-C

As fosfolipases são enzimas que catalisam a quebra de fosfolipídeos em pontos diferentes. Exemplo: PKC, PKA, PKD. A fosfolipase-C cliva o fosfatidilinositol na membrana em diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP_3), dois importantes segundos mensageiros, ao lado do AMPc e GMPc.

Diacil-glicerol

O diagil-glicerol (DAG) ativa um tipo de proteína quinase, denominada PKC (C porque é também dependente de Ca^{2+}). As PKCs fosforilam serinas ou treoninas, mas desde que estejam perto de outros aminoácidos, que são diferentes daqueles reconhecidos pela PKA. As PKCs são translocadas para a membrana citoplasmática, onde interagem com fosfatidilserina. Todas as PKCs dependem de fosfatidilserina para serem ativadas.

Proteínas fosforiladas por PKC podem ser enzimas metabólicas, canais iônicos, fatores de transcrição, transportadores de membrana etc.

Inositol trifosfato (IP_3)

Quando há formação de IP_3 a concentração intracitoplasmática de Ca^{2+} aumenta, pois é ativado um canal para Ca^{2+} presente na membrana do retículo endoplasmático (um reservatório de Ca^{2+} dentro da célula). O Ca^{2+} no citoplasma pode desencadear processos,

como a fusão de vesículas, a ativação de outros canais iônicos, a ativação de proteínas quinases dependentes de Ca^{2+}, como a PKC, ou pode se ligar a proteínas, como a **troponina** ou a **calmodulina**, levando à contração do músculo estriado ou liso, respectivamente.

O Ca^{2+}, que foi liberado do retículo, é rapidamente bombeado de volta para o retículo por bombas de Ca^{2+}, presentes na membrana dessa organela. Além disso, o Ca^{2+} pode ser retirado da célula por contratransportadores Na^{+}-Ca^{2+} da membrana plasmática. O IP_3 é rapidamente metabolizado e para de estimular a liberação de Ca^{2+}.

Via de ativação AMPc

A adenil ciclase catalisa a conversão de ATP em AMP cíclico (AMPc), liberando dois grupos fosfato. Quando a adenil ciclase é ativada a concentração de AMPc na célula aumenta. O AMPc é um importante segundo mensageiro intracelular. Ele pode ativar diretamente um canal iônico, resultando em variação do potencial de membrana. O AMPc pode ativar também PKA, que pode fosforilar enzimas metabólicas, canais iônicos, fatores de transcrição, transportadores de membrana etc. A proteína, que é fosforilada nesse passo, geralmente, é o efetor final do efeito, desencadeando pelo ligante que se ligou ao receptor, para que todo o processo tivesse início.

A SENESCÊNCIA E A MORTE CELULAR

Um dos fatores que determinam o envelhecimento da célula é o encurtamento natural da região telomérica dos cromossomos, pela ação da enzima telomerase. A cada divisão, essa região diminui, até que a célula não possa mais se dividir. Alguns tumores, em que as células são "imortalizadas", apresentam mutações nas quais a região telomérica não é degradada.

Uma célula pode morrer por diversos mecanismos. O mecanismo fisiológico mais natural que atua na embriogênese e na manutenção do número de células normal nos órgãos é a **apoptose**. Esse é um mecanismo ativo, resultante do estímulo por moléculas como o Fas ou o Bax. Na apoptose ocorrem eventos, como a ativação de caspases (tipos de proteases), a ativação de endonucleases que quebram o DNA em pedaços regulares e a inibição dos mecanismos de reparo do DNA. Esse processo faz com que a célula não possa mais se dividir e entre em processo de autofagia. As organelas das células serão empacotadas em vesículas, que serão fagocitadas por macrófagos ou outras células fagocíticas. É uma morte "limpa", que não causa estragos ao tecido em volta, como a **necrose**, morte por alteração da permeabilidade da membrana, como no choque osmótico.

ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Consulte os mecanismos de sinalização celular dos principais hormônios.

Leitura complementar: HAUACHE, Omar M. Receptores acoplados à proteína G: implicações para a fisiologia e doenças endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 45, n. 3, p. 228-239, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302001000300004&lng=en&nrm=iso>.

AUTOAVALIAÇÃO

- Qual a importância da interação ligante-receptor?
- Quais os principais modos de secreção de mediadores?
- Cite três vias de sinalização que envolvem mediadores secundários distintos.

AULA 14

A diferenciação celular

Valéria Ruiz de Souza

Objetivos
Nesta aula veremos os principais tipos de células e como elas se diferenciam. Esse processo será revisto, posteriormente, na Biologia do Desenvolvimento, considerando-se o desenvolvimento embrionário como um todo. Abordaremos, aqui, alguns aspectos celulares importantes na diferenciação de células com potencial mais restrito de diferenciação que as células embrionárias.

TODOS NÓS JÁ FOMOS UMA ÚNICA CÉLULA

Todas as células de organismos multicelulares se originam do ovócito fecundado. Elas **proliferam**, **diferenciam-se**, **migram** e interagem umas com as outras e com a matriz extracelular, formando diferentes tecidos e órgãos. A manutenção de células indiferenciadas (células-tronco, células-fonte ou precursoras) é de fundamental importância para a renovação dos tecidos, cada qual com sua capacidade de regeneração e de reposição. Os epitélios e as células sanguíneas são os tecidos com a maior taxa de renovação e possuem células-tronco bastante estudadas.

Existem células com potencial de gerar qualquer tipo celular e são chamadas de **células-tronco totipotentes**. São as células-tronco embrionárias que formam o blastocisto. Elas representam um enorme potencial terapêutico para a obtenção de tecidos a fim de reconstituir órgãos comprometidos. Células-tronco embrionárias podem ser obtidas de embriões ou do cordão umbilical, após o nascimento do bebê, e congeladas para utilização posterior.

Algumas células têm potencial de diferenciação limitado, podendo dar origem a poucos tipos celulares, sendo chamadas de **células-tronco pluripotentes**. Elas iniciam sua diferenciação durante a gastrulação. Essas células passaram por algumas etapas de diferenciação e

apresentam modificações. Dados recentes das experiências com clonagem mostram que os núcleos de células adultas apresentam modificações permanentes (*imprinting*), que refletem, de alguma maneira, a história dessa célula.

A diferenciação celular resulta da expressão diferencial de genes e é um **processo ontogenético** que ocorre no desenvolvimento dos seres multicelulares. Nesse sentido, é uma sequência precisa de eventos que devem acontecer em tempos e locais apropriados.

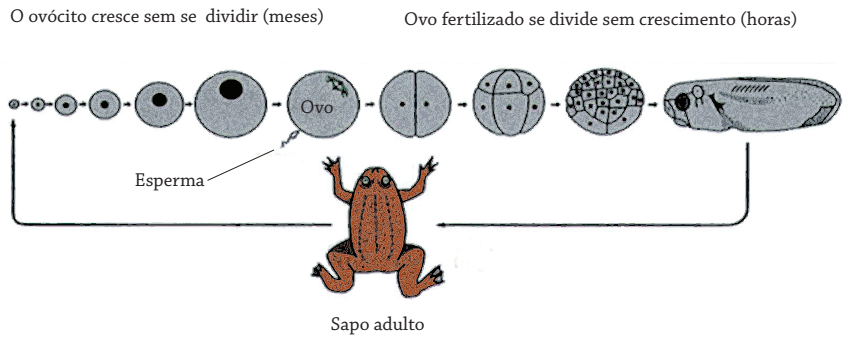


Figura 1 – Relação entre divisão e diferenciação celular no desenvolvimento do sapo.

A ORIGEM EMBRIONÁRIA DAS CÉLULAS DOS PRINCIPAIS TIPOS DE TECIDO

Para o estabelecimento dos metazoários, um dos eventos mais importantes foi a organização de folhas epiteliais que separam compartimentos externos e internos. A possibilidade de **adesão** e de **comunicação** entre as células, por meio de junções, e a polarização celular em regiões basal e apical parecem ser os principais requisitos para a multicelularidade. Os epitélios são tecidos especializados que vedam espaços e selecionam a passagem de substâncias entre diferentes compartimentos. Além disso, eles participam da proteção dos organismos contra forças mecânicas, da desidratação, de alterações da microbiota, de ações enzimáticas, de extremos de pH e de agentes patogênicos. A formação de um espaço intercelular, a **matriz extracelular (MEC)**, possibilitou a manutenção de um meio mais constante para o metabolismo e para trocas e interações entre as células. A criação desse meio proporcionou também a diferenciação celular, sendo as atividades de manutenção do organismo assumidas por tipos celulares mais especializados.

Alguns exemplos de células-tronco pluripotentes:

- Células mesenquimais (tecido conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, ósseo);
- Células-tronco hematopoiéticas (precursoras de eritrócitos, monócitos, linfócitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos e megacariócitos);

- Células-tronco epiteliais (epitélios do intestino e da pele, anexos);
- Células-tronco germinativas (dos testículos no macho adulto e no ovário embrionário).

FATORES DE DIFERENCIAÇÃO

Os organismos unicelulares dependem, basicamente, da disponibilidade de nutrientes de seu meio para se multiplicarem. Nos organismos multicelulares, a progressiva diferenciação celular e a formação de microambientes internos distintos permitiram a especialização de diferentes tipos de células e tecidos, que juntos formam os órgãos e sistemas fisiológicos. Todos eles participam reciprocamente da constituição e da dinâmica do organismo como um todo. O ritmo de divisão celular e o tempo de permanência das células na intérfase diferem entre tipos celulares diversos. A capacidade de regeneração dos tecidos também. Além disso, em fases diferentes da vida do organismo, as taxas de regeneração, de diferenciação celular e de metabolismo celular também variam. Portanto, ao se estudar a biologia celular, é necessário que o pesquisador se situe ao longo da vida do indivíduo.

Dentre os principais fatores de diferenciação celular, encontram-se os hormônios, os fatores de crescimento e de diferenciação, as vitaminas e as interações entre as células e entre as células e a matriz extracelular.

A MATRIZ EXTRACELULAR E A DIFERENCIAÇÃO CELULAR

Muitas vezes, hormônios e demais fatores de diferenciação celular irão alterar a produção da matriz extracelular pelas células do tecido. Alterações de crescimento, estado de diferenciação e resposta metabólica das células atribuídas às citocinas ou fatores de crescimento são idênticos ou similares ao efeito da MEC sobre as células. Assim, o novo paradigma é de que, além do programa genético básico, quatro tipos principais de interação (fatores de crescimento/citocinas, hormônios/vitaminas, contato célula-célula e célula-MEC) regulam o crescimento, a forma, o grau de diferenciação, o desenvolvimento e as respostas bioquímicas das células. Cada uma dessas interações é mediada por receptores na superfície ou no interior das células, resultando na alteração da expressão gênica. De importância fundamental é o fato de que cada tipo de interação, incluindo a interação da célula com a MEC resulta na alteração da própria matriz extracelular, fenômeno dito de reciprocidade mútua.

A orquestração dos sinais recebidos pela célula resulta, então, na repressão de certos genes e ativação de outros. Esse fenômeno pode alterar a forma da célula, seus produtos para exportação e para sua

própria estrutura e as moléculas de sua superfície. Essas alterações refletirão no modo com que essa célula interage com outras células e com a matriz extracelular. Ela pode permanecer no lugar, proliferar ou migrar para outros tecidos ou outras regiões do tecido. Como exemplo, veja o processo de queratinização do epitélio.

A interação das células com hormônios neurotransmissores com outras células e com a matriz extracelular ocorre, geralmente, através de receptores na membrana celular ou dentro da célula. Essa ligação desencadeia uma série de reações dentro da célula, como a liberação de Ca^{2+} do REL, mudanças na concentração de AMP cíclico, a fosforilação e desfosforilação de proteínas e o metabolismo de lipídios importantes. Mediadores secundários são produzidos, podendo ser translocados para o núcleo, ativando ou reprimindo a expressão de diferentes genes. Além disso, alterações do citoesqueleto podem alterar a forma e a adesão celular. Os mecanismos de sinalização intracelular são bastante conservados, sendo alguns dos mediadores presentes em bactérias e em metazoários.

Os sinais para a regulação do ciclo celular e da diferenciação celular são mediados por fatores que agem tanto na célula como na matriz extracelular.

ALTERAÇÕES NAS CÉLULAS EM DIFERENCIAÇÃO

As células em diferenciação podem alterar o número, a localização e o volume das suas diferentes organelas. Assim, um linfócito, quando ativado, para se diferenciar em plasmócito, aumentará em muito o volume de seu RER, pois irá sintetizar cerca de 1.000 moléculas de anticorpos por segundo. As células precursoras de hemácias, os eritroblastos, aumentarão enormemente o número de ribossomos livres e reduzirão o número das organelas com membrana, enquanto sintetizam hemoglobina e incorporam ferro para formar o grupo heme. Nesses casos, vacúolos autofágicos podem ser encontrados.

Outro caso interessante é a diferenciação das células, que formam camadas epiteliais constituídas por uma única camada. Essas células começam a se diferenciar de células-tronco epiteliais que se dividem. A célula-filha que se diferencia irá crescer, fazer contato com as vizinhas, estabelecer complexos juncionais, que irão, por fim, proporcionar a polarização da célula. Assim, uma célula absortiva intestinal tem uma face apical com microvilosidades e que expressa as proteínas necessárias à absorção de nutriente. A parte basal das células expressará outro repertório de proteínas, relacionadas com as funções de secreção da célula epitelial. O estabelecimento de junções entre células e com a matriz extracelular, assim como a polarização, faz parte do processo de diferenciação celular dos epitélios.

MARCADORES DE DIFERENCIAÇÃO

Durante a diferenciação celular, algumas proteínas são expressas transitoriamente e podem ser detectadas por meio de anticorpos específicos, produzidos em animais imunizados com essas proteínas. Esses anticorpos são ferramentas importantes para o estudo da diferenciação celular e no diagnóstico de leucemias e outros tipos de câncer. Em alguns tumores, proteínas expressas apenas no estágio embrionário voltam a ser expressas no adulto. Exemplo: a alfa-fetoproteína é expressa, principalmente, no período fetal, em contraposição à expressão da albumina, que ocorre, principalmente, após o nascimento. No câncer hepático, a alfa-fetoproteína passa a ser expressa em grandes quantidades, podendo ser detectada no soro. No desenvolvimento de linfócitos, vários marcadores são conhecidos, por exemplo, o CD4, importante na interação linfocitária e também na infecção pelo HIV, o CD25 que é uma das cadeias proteicas do receptor para a interleucina 2 (IL-2).

MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR

As moléculas de adesão conferem à célula um tipo de endereço. Elas podem ancorar células em tecidos específicos ou "endereçar" células migrantes a determinadas regiões do corpo.

Principais moléculas de adesão e respectivas funções	
Selectinas	As selectinas interagem com açúcares nas glicoproteínas e na matriz. Promovem uma adesão fraca inicial que pode dar início às etapas posteriores.
Caderinas	Moléculas de adesão dependentes da concentração de Ca^{2+}. São importantes para adesão das células de um mesmo tecido. Exemplo: E-caderina nos epitélios. Associam-se ao citoesqueleto.
Integrinas	São moléculas importantes na adesão das células à lâmina basal e demais componentes da matriz extracelular, assim como na interação linfocitária. Integrinas diferentes são expressas em tecidos diferentes, que possuem matriz e tipos celulares diferentes. Exemplo: α4β1 nas mucosas.
ICAMs	*Intercelular Adhesion Molecules.* Pertencem à superfamília das imunoglobulinas. Exemplo: V-CAM vascular, E-CAM endotélio, N-CAM no tecido nervoso.

A ativação celular, ou a ação de fatores de crescimento ou diferenciação, pode levar à perda da expressão de moléculas de adesão. Isso ocorre,

normalmente, nos epitélios estratificados, nos quais as células perdem o contato com a lâmina basal e passam a se diferenciar nas camadas superiores. A perda de certas moléculas de adesão em células tumorais pode levar à migração das células para outros tecidos resultando em metástases.

ATIVIDADES PRÁTICAS COMPLEMENTARES

Observação de tipos diferentes de células e tecidos (atlas e *sites* da Bibliografia Geral da disciplina).

AUTOAVALIAÇÃO

- Procure observar os diferentes tipos celulares como neurônios, hemácias e hepatócitos.
- Qual a relação entre a diferenciação celular e a proliferação?
- A taxa de renovação dos tecidos está relacionada ao ciclo celular e ao processo de diferenciação celular.
- Procure comparar a diferenciação de um neurônio e de um epitélio.
- Procure relacionar os principais mediadores celulares e a diferenciação celular.

Bibliografia

ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Fundamentos da biologia celular* – uma introdução à biologia molecular da célula. Porto Alegre: Artmed, 1999. 757 p.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 426 p.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 512 p.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 339 p.

SOBOTTA. Histologia. *Atlas Colorido de Citologia, Histologia e Anatomia Microscópica Humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 728 p.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR

ROSS, M. H.; ROMRELL, L. J. *Histologia Texto e Atlas*. 2. ed. [S.l.]: Panamericana, 1993.

WHEATER, P. R.; BUR KITT, H. G.; DANIELS, V. G. *Histologia Funcional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409 p.

GENESER, F. *Atlas de Histologia*. [S.l.]: Panamericana, 1990. 224 p.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Atlas de Histologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

LEESON, T. S.; LEESON, C. R. *A brief atlas of histology*. [S.l.]: Saunders Company, 1979.

SITES RECOMENDADOS

Sites de apoio

Biologia Celular Virtual: <http://www.icb.ufmg.br/mor/biocelch>. Financiado pela FUNDEP, Edital 07/1999, com apoio da PROGRAD e ATI; Coordenação: Profa. Valéria Ruiz de Souza, Depto. de Morfologia/ ICB-UFMG.

Citologia e Histologia Geral: <http://www.icb.ufmg.br/mor/chg>.

Coordenação: Profa. Ellizete Rizzo, Depto. de Morfologia/ICB-UFMG.

Estrutura e Função Celular: <http://www.icb.ufmg.br/mor/efcelular>. Coordenação: Profa. Valéria Ruiz de Souza, Depto. de Morfologia/ICB-UFMG.

Sites interessantes

Instituto de Biociências da USP – Anatomia Vegetal: <http://felix.ib.usp.br/slides_franc/Fotos_de_slides/Colecao_Botanica.htm>.

Histologia Comparada: <http://www.uoguelph.ca/zoology/devobio/histology/chindex.htm>.

Para aguçar seu sentido de escala, visite os sites abaixo e faça uma viajem das galáxias aos *quarks*.

Noções de escala – Animação de escala cósmica a subatômica: <http://www.micro.magnet.fsu.edu/primer/java/scienceopticsu/powersof10/index.html>.

Microscópio eletrônico virtual: <http://www.micro.magnet.fsu.edu/primer/java/electronmicroscopy/magnify1/index.html>.

Microscopia óptica virtual: <http://www.micro.magnet.fsu.edu/primer/virtual/magnifying/index.html>.

Microscopia confocal: <http://www.micro.magnet.fsu.edu/primer/virtual/confocal/index.html>.

Livros on-line

LODISH, Berk *et al*. *Molecular Cell Biology*. Disponível em: <http://www.whfreeman.com/lodish/>. Acesso em: 28 dez. 2007.

Animações virtuais em Biologia

<http://vcell.ndsu.nodak.edu/animations/>.

The virtual cell: <http://www.ibiblio.org/virtualcell/index.htm>.

Hipertextos para Ciências Biomédicas:

<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/index.html>.

The inner life of the cell:

<http://www.youtube.com/watch?v=jjexZ88wIno>.



Para obter mais
informações sobre
outros títulos da
EDITORA UFMG,
visite o site

www.editora.ufmg.br

A presente edição foi composta pela Editora UFMG e impressa pela Imprensa Universitária, em sistema offset, papel offset 90g (miolo) e cartão supremo 250g (capa), em abril de 2009.

ISBN 978-85-7041-659-9



CENTRO DE APOIO
À EDUCAÇÃO A
DISTÂNCIA UFMG

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Secretaria de Educação a Distância
Ministério da Educação

BRASIL
UM PAÍS DE TODOS
GOVERNO FEDERAL