

1

Introdução: Uma Vista Panorâmica sobre a Estrutura, Funções e Evolução das Células

ROTEIRO

- *Para sua multiplicação, os vírus, que não são constituídos por células, usam a maquinaria sintética das células que parasitam para produzir macromoléculas viróticas.*
 - *Só existem dois tipos celulares básicos: as células procariontes e as eucariontes.*
 - *As células procariontes não possuem núcleo, com o genoma sendo separado do citoplasma por um envoltório e, geralmente, não apresentam membranas dividindo o citoplasma em compartimentos.*
 - *As bactérias do grupo das rickettsias e clamídias são células procariontes incompletas, que só se multiplicam dentro das células eucariontes.*
 - *As células eucariontes são maiores, estruturalmente mais complexas, contêm muito mais DNA, seus cromossomos são complexos, contêm histonas e ficam separados do citoplasma pelo envoltório nuclear.*
 - *O citoplasma das células eucariontes é dividido por membranas em compartimentos contendo moléculas distintas e que executam funções especializadas em cada compartimento, aumentando muito a eficiência dessas células.*
 - *As células eucariontes das plantas têm geralmente um grande vacúolo citoplasmático, apresentam plastos, têm parede de celulose, armazenam amido como reserva energética e se comunicam por meio de plasmodesmos.*
 - *Cloroplastos e mitocôndrias provavelmente se originaram de bactérias simbióticas que se estabeleceram de modo definitivo no citoplasma.*
 - *Os seres vivos podem ser agrupados em cinco grandes grupos ou reinos: moneras, protistas, plantas, fungos e animais.*
 - *Estudos filogenéticos moleculares, baseados principalmente no RNA ribossomal, separam os seres vivos em apenas três grandes grupos ou domínios: Bactéria, Árvore e Eucária. Os dois primeiros domínios são constituídos por células procariontes; só o domínio Eucária apresenta células eucariontes.*
-

Neste capítulo será apresentada uma visão panorâmica, resumida, da estrutura, funções e evolução das células, que servirá de base para o estudo da matéria tratada com mais profundidade nos capítulos seguintes.

A célula é a unidade que constitui os seres vivos, podendo ocorrer isoladamente, nos seres unicelulares, ou formar arranjos ordenados, os tecidos, que constituem o corpo dos seres pluricelulares. Em geral, os tecidos apresentam quantidades variáveis de material extracelular, produzido por suas células.

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios

Devido a suas relações com as células e a seus efeitos sobre estas, podendo causar doenças de gravidade variável, os vírus serão estudados neste livro, embora de modo resumido (ver Cap. 16). Um vírus não é capaz de se multiplicar, exceto quando parasita uma célula de cujas enzimas se utiliza para a síntese das macromoléculas que vão formar novos vírus. Eles não possuem todas as enzimas e nem as estruturas necessárias para a fabricação de outros vírus. São, portanto, parasitas intracelulares obrigatórios. Na verdade, os vírus são parasitas moleculares, pois induzem a maquinaria sintética das células a sintetizar as moléculas que vão formar novos vírus em vez de produzir moléculas para a própria célula.

Os vírus que atacam as células animais não atacam as vegetais, e vice-versa. Distinguem-se, pois, os vírus animais e os vírus vegetais. Há, porém, alguns vírus vegetais que, invadindo-as, multiplicam-se nas células de insetos disseminadores desses vírus de uma planta para outra. Os vírus das bactérias são chamados bacteriófagos, ou simplesmente fagos.

Cada vírus é formado basicamente por duas partes: (1.º) uma porção central que leva a informação genética, isto é, um genoma constituído de ácido ribonucleico ou desoxirribonucleico, no qual estão contidas, em código, todas as informações necessárias para a produção de outros vírus iguais; e (2.º) uma porção periférica, constituída de proteínas, que protege o genoma, possibilita ao vírus identificar as células que ele pode parasitar e, em certos vírus, facilita a penetração nas células. Alguns vírus contêm ácido ribonucleico (RNA), enquanto outros contêm ácido desoxirribonucleico (DNA). Os dois tipos de ácidos nucleicos jamais estão presentes no mesmo tipo de vírus.

Certos vírus maiores e mais complexos apresentam um invólucro lipoprotéico. A parte lipídica desse invólucro origina-se das membranas celulares. Mas as proteínas (glicoproteínas) são de natureza viral, isto é, são codificadas pelo ácido nucleico do vírus.

Rickéttsias e clamídias são células incompletas e, por essa razão, só proliferam no interior de uma célula completa

As bactérias dos grupos das rickéttsias e das clamídias são muito pequenas e constituídas por células procariontes incompletas, que não possuem a capacidade de autoduplicação independente da colaboração de outras células. Como os vírus, as rickéttsias e clamídias são parasitas intracelulares obrigatórios,

pois só proliferam no interior das células completas. Todavia, as células incompletas diferem dos vírus em três aspectos fundamentais. Em primeiro lugar, os vírus contêm apenas um tipo de ácido nucleico, que pode ser o ácido ribonucleico (RNA) ou o desoxirribonucleico (DNA), enquanto as células incompletas contêm ao mesmo tempo DNA e RNA. Em segundo lugar, os vírus carregam, codificada no seu ácido nucleico, a informação genética para a formação de novos vírus, mas não possuem organelas e, por isso, se utilizam da maquinaria das células para se multiplicar. As células incompletas, ao contrário, têm parte da máquina de síntese para reproduzir-se, mas necessitam da suplementação fornecida pelas células parasitadas. Em terceiro lugar, as células incompletas têm uma membrana semipermeável, através da qual ocorrem trocas com o meio, o que não acontece com os vírus. O invólucro que alguns vírus possuem e que, em parte, é constituído de moléculas celulares, perde-se quando esses vírus penetram nas células.

Provavelmente, as células incompletas são células "degeneradas", isto é, que, no correr dos anos, perderam parte do seu DNA, de suas enzimas e, portanto, sua autonomia, tornando-se dependentes das células que se conservaram completas.

Existem apenas 2 tipos básicos de células: as procariontes e as eucariontes

A microscopia eletrônica demonstrou que existem fundamentalmente duas classes de células: as procariontes (*pro*, primeiro, e *cario*, núcleo), cujos cromossomos não estão separados do citoplasma por membrana, e as eucariontes (*eu*, verdadeiro, e *cario*, núcleo), com um núcleo bem individualizado e delimitado pelo envoltório nuclear. Como será visto a seguir, embora a complexidade nuclear seja utilizada para dar nome às duas classes de células, há outras diferenças importantes entre procariontes e eucariontes.

As células procariontes são pobres em membranas

As células procariontes caracterizam-se pela pobreza de membranas. Nelas, geralmente a única membrana presente é a membrana plasmática. Ao contrário das células eucariontes, as procariontes não possuem membranas separando os cromossomos do citoplasma. Os seres vivos que têm células procariontes são denominados procariotas; essas células constituem as bactérias (as cianofíceas, ou algas azuis, também são bactérias).

A célula procarionte mais bem estudada é a bactéria *Escherichia coli* (Fig. 1.1), que, por sua simplicidade estrutural e rapidez de multiplicação, revelou-se excelente para estudos de biologia molecular. A *E. coli* tem a forma de bastão, com cerca de 2 µm de comprimento e é separada do meio externo por uma membrana plasmática semelhante à que envolve as células eucariontes. Por fora dessa membrana existe uma parede rígida, com 20 nm de espessura, constituída por um complexo de proteínas e glicosaminoglicanas. A parede tem sobretudo função de proteção mecânica.

No citoplasma da *E. coli* existem ribossomos ligados a moléculas de RNA mensageiro (mRNA), constituindo polirribos-

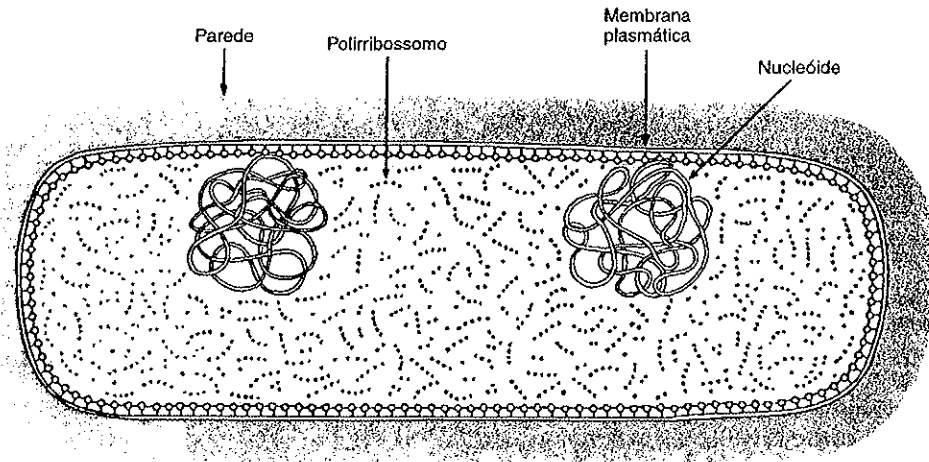


Fig. 1.1 Célula procariote (bactéria *Escherichia coli*). A célula é envolvida por uma parede rígida presa à membrana plasmática. Na face interna da membrana, encontram-se enzimas relacionadas com a respiração e que estão representadas, no desenho, por pequenas raquetas. O citoplasma contém numerosos polirribossomos, mas não apresenta o sistema de membranas que existe nas células eucariontes. O desenho mostra dois cromossomos, que são idênticos e se prendem à membrana plasmática. A região ocupada pelo cromossomo chama-se nucleóide.

somos. Encontram-se, em geral, dois ou mais cromossomos idênticos, circulares, ocupando regiões denominadas **nucleóides** e muitas vezes presos a pontos diferentes da membrana plasmática. Cada cromossomo, constituído de DNA não-associado a histonas, tem espessura de 2 nm e comprimento de 1,2 mm. As células procariotes não se dividem por mitose e seus filamentos de DNA não sofrem o processo de condensação que leva à formação de cromossomos visíveis ao microscópio óptico, durante a divisão celular.

O citoplasma das células procariotes em geral não apresenta outra membrana além daquela que o separa do meio externo (membrana plasmática). Em alguns casos podem existir invaginações da membrana plasmática que penetram no citoplasma, onde se enrolam, originando estruturas denominadas **mesossomos**. Além disso, no citoplasma das células procariotes que realizam a fotossíntese, existem algumas membranas, paralelas entre si, e associadas à clorofila ou a outros pigmentos responsáveis pela captação da energia luminosa.

Outra diferença entre a célula procariote e a eucarionte é a falta de um citoesqueleto nas células procariotes. Nas eucariontes, o citoesqueleto é responsável pelos movimentos e pela forma das células, que, muitas vezes, é complexa. A forma simples das células procariotes, em geral esférica ou em bastonete, é mantida pela **parede extracelular**, sintetizada no citoplasma e agregada à superfície externa da membrana celular. Essa parede é rígida e tem também papel importante na proteção das células bacterianas. Na natureza são encontradas populações de bactérias nos mais diversos habitats, e a parede é essencial para proteger as células contra os fatores muitas vezes agressivos desses habitats.

Todavia, a diferença mais marcante entre as células procariotes e as eucariontes é a pobreza de membranas nas procariotes. O citoplasma das células procariotes não se apresenta subdividido em compartimentos, ao contrário do que ocorre nas células eucariontes, onde um extenso sistema de membrana cria, no citoplasma, microrregiões (Fig. 1.2) que contêm moléculas diferentes e executam funções especializadas.

As células eucariontes são compartimentalizadas

Essas células apresentam duas partes morfológicamente bem distintas — o **citoplasma** e o **núcleo** —, entre as quais existe um trânsito constante de moléculas diversas, nos dois sentidos. O citoplasma é envolto pela **membrana plasmática**, e o núcleo, pelo **envoltório nuclear**.

Uma característica importante das células eucariontes é sua riqueza em membranas (Fig. 1.2), formando compartimentos que separam os diversos processos metabólicos graças ao direcionamento das moléculas absorvidas ou produzidas nas próprias células. Além disso, existem grandes diferenças enzimáticas entre as membranas dos vários compartimentos. A célula eucarionte é como uma fábrica organizada em seções de montagem, pintura, embalagem etc. Além de aumentar a eficiência, a separação das atividades permite que as células eucariontes atinjam maior tamanho, sem prejuízo de suas funções.

O citoplasma é constituído pela matriz, organelas e depósitos diversos

O citoplasma das células eucariontes contém as organelas, como mitocôndrias, retículo endoplasmático, aparelho de Golgi, lisossomos e peroxissomos. O conceito de organela não é bem definido, variando um pouco de um autor para outro. Alguns consideram organelas apenas as estruturas envolvidas por membrana, como as mitocôndrias e os lisossomos, por exemplo. Outros admitem como organelas todas as estruturas intracelulares presentes em todas as células e que desempenham funções bem definidas, mesmo que não sejam delimitadas por membrana.

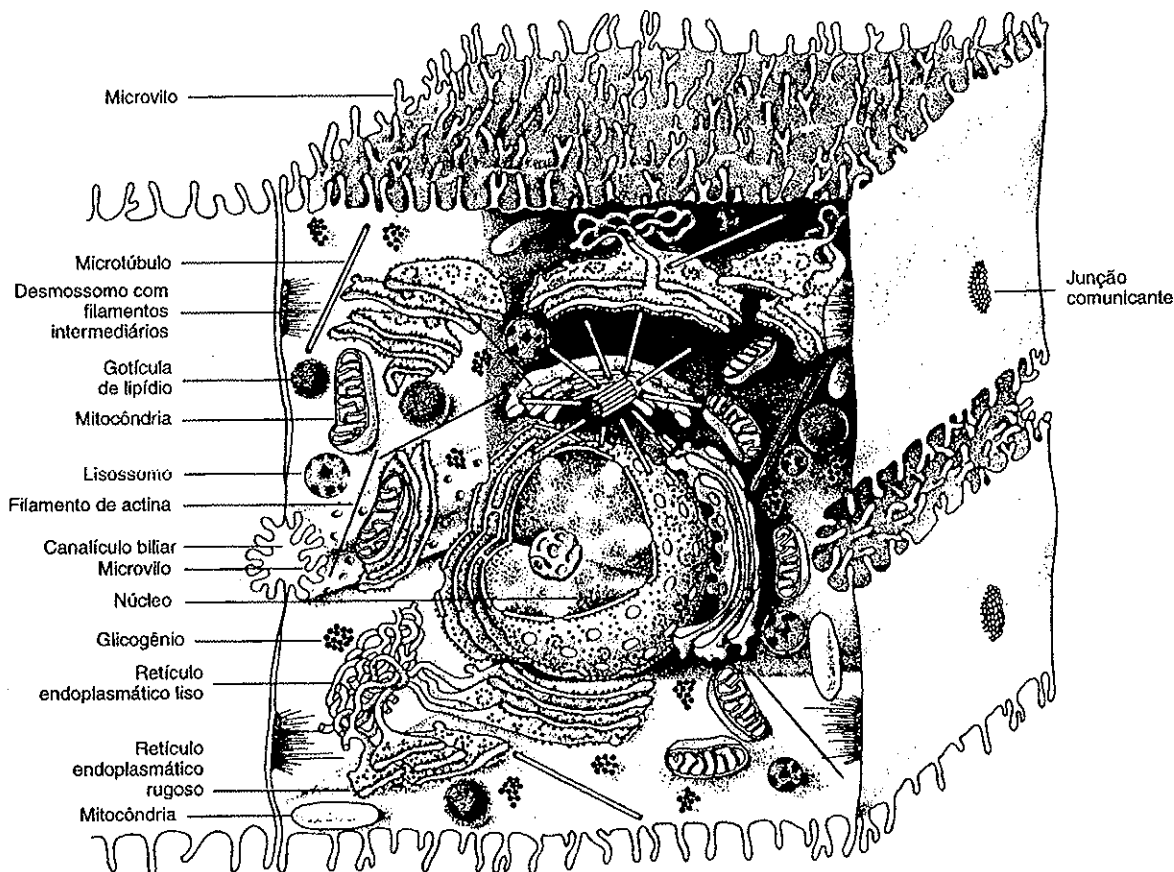


Fig. 1.2 Representação tridimensional de célula eucarionte animal (célula do fígado). O núcleo é separado do citoplasma pelo envelope nuclear, de dupla membrana, com poros. O citoplasma das células eucariontes possui um sistema de membranas muito desenvolvido e que, por razões didáticas, só está parcialmente representado nesta figura. Observar, acima do núcleo, um dos dois centríolos da célula, de onde irradiam microtúbulos. Atrás dos centríolos está o aparelho de Golgi. No centro do núcleo aparece o nucléolo. (Reproduzido, com permissão, de Carneiro, J.: Bases Celulares para a Fisiopatologia. In: Marcondes, M. et al. *Clínica Médica*, 3.^a ed. Guanabara Koogan, 1984.)

(exemplos: centríolos, corpúsculos basais dos cílios). Além das organelas, o citoplasma pode apresentar depósitos de substâncias diversas, como grânulos de glicogênio e gotículas lipídicas. Preenchendo o espaço entre as organelas e os depósitos, também chamados inclusões, encontra-se a **matriz citoplasmática** ou **citossol**. O citossol contém água, íons diversos, aminoácidos, precursores dos ácidos nucleicos, numerosas enzimas, incluindo as que realizam a glicólise anaeróbia (ver Cap. 4) e as que participam da degradação e síntese de hidratos de carbono, de ácidos graxos, de aminoácidos e de outras moléculas importantes para as células. O citossol possui microfibrilas, constituídas de actina, e microtúbulos, constituídos de tubulina, cujas unidades monoméricas se podem despolimerizar e polimerizar novamente, de modo reversível e dinâmico, o que explica as modificações de sol para gel e vice-versa observadas no citoplasma. Quando despolimerizadas (separadas umas das outras), as moléculas das proteínas actina e tubulina conferem maior fluidez ao citossol. Quando polimerizadas em microfibrilas e microtúbulos, conferem a consistência de gel à região citoplasmática onde se encontram.

Membrana plasmática

É a parte mais externa do citoplasma, que separa a célula do meio extracelular, contribuindo para manter constante o meio intracelular, que é diferente do meio extracelular. Tem cerca de 7 a 10 nm de espessura e aparece nas eletromicrografias como duas linhas escuras separadas por uma linha central clara. Essa estrutura trilaminar é comum às outras membranas encontradas nas células, sendo por isso chamada **unidade de membrana** ou **membrana unitária**.

As unidades de membrana são bicamadas lipídicas formadas principalmente por fosfolipídios e contendo uma quantidade variável de moléculas protéicas, mais numerosas nas membranas com maior atividade funcional (as proteínas são responsáveis pela maioria das funções da membrana). O folheto externo da bicamada lipídica da membrana plasmática apresenta muitas moléculas de glicolipídios, com as porções glicídicas se projetando para o exterior da célula. As porções glicídicas dos glicolipídios se juntam porções glicídicas das proteínas da própria

membrana, mais glicoproteínas e proteoglicanas secretadas, que são adsorvidas pela superfície celular para formar um conjunto denominado **glicocálice**. Assim, o glicocálice é uma projeção da parte mais externa da membrana, com apenas algumas moléculas adsorvidas, e não uma camada inteiramente extracelular, como se pensou inicialmente.

Mitocôndrias

As mitocôndrias são organelas esféricas ou, mais frequentemente, alongadas (Fig. 1.2). Nas micrografias eletrônicas aparecem constituídas por duas unidades de membrana, sendo a interna pregueada, originando dobras em forma de prateleiras ou de túbulos (Fig. 1.3).

A principal função das mitocôndrias é liberar energia gradualmente das moléculas de ácidos graxos e glicose, provenientes dos alimentos, produzindo calor e moléculas de ATP (adenosina-trifosfato). A energia armazenada no ATP é usada pelas células para realizar suas diversas atividades, como movimentação, secreção e divisão mitótica. As mitocôndrias participam também de outros processos do metabolismo celular (chama-se metabolismo ao conjunto de processos químicos de degradação e síntese de moléculas), muito variáveis conforme o tipo de célula, e que serão estudados em outros capítulos deste livro.

Retículo endoplasmático

No citoplasma das células eucariontes existe uma rede de vesículas achatadas, vesículas esféricas e túbulos que se intercomunicam formando um sistema contínuo, embora apareçam separados nos cortes examinados no microscópio eletrônico. Esses elementos possuem uma parede formada por uma unidade de membrana que delimita cavidades, as **cisternas do retículo endoplasmático** (Fig. 1.3). As cisternas constituem um sistema de túneis, de forma muito variável, que percorre o citoplasma. Distinguem-se o retículo endoplasmático **rugoso**, ou **granular**, e o **liso** (Fig. 1.2).

A membrana do retículo endoplasmático rugoso apresenta os **ribossomos** na sua superfície voltada para o citossol. Os ribossomos são partículas densas aos elétrons e constituídas de ácido ribonucleico (RNA ribossômico ou rRNA) e proteínas. Os ribossomos das células eucariontes têm um diâmetro de 15 a 20 nm, sendo um pouco menores nas células procariontes (bactérias). Cada ribossomo é formado por duas subunidades de tamanhos diferentes, que se associam somente quando se ligam aos filamentos de RNA mensageiro (mRNA).

Como diversos ribossomos se associam a um único filamento de RNA mensageiro (mRNA), formam-se **polirribossomos** que ficam dispersos no citoplasma ou presos à superfície externa do



Fig. 1.3 Eletromicrografia de parte do citoplasma de uma célula do tecido conjuntivo (plasmócito). Os corpos mais escuros e alongados são **mitocôndrias**. Essa célula, especializada na síntese de proteínas, é muito rica em **retículo endoplasmático rugoso** ou **granular** (REG). As cisternas estão dilatadas por proteínas que serão secretadas no meio extracelular. As proteínas aparecem como um precipitado fino e claro no interior das cisternas do retículo endoplasmático rugoso. Aumento: 60.000X.

retículo endoplasmático rugoso. Os polirribossomos têm papel fundamental na síntese de proteínas.

O retículo endoplasmático liso apresenta-se principalmente como túbulos que se anastomosam (Fig. 1.2) e se continuam com o retículo rugoso. O retículo endoplasmático liso é muito desenvolvido em certos tipos de células, como, por exemplo, nas que secretam hormônios esteróides, nas células hepáticas e nas células da glândula adrenal.

Endossomos

Os endossomos formam um compartimento que recebe as moléculas introduzidas no citoplasma das células pelas vesículas de pinocitose, que se originam da membrana plasmática (ver Cap. 5). O compartimento endossomal é constituído de elementos separados. É um sistema extenso, indo desde a periferia do citoplasma até as proximidades do núcleo celular. É formado por vesículas e túbulos, cujo interior apresenta pH ácido. Esse compartimento é responsável pela separação e endereçamento do material que penetra no citoplasma pelas vesículas de pinocitose. Grande parte desse material é encaminhada para os lisossomos, porém muitas moléculas passam dos endossomos para o citossol e outras são devolvidas para a superfície celular. Os endossomos podem ser considerados como uma parte da via lisossomal, porque muitas moléculas que se dirigem para os lisossomos passam antes pelos endossomos.

Aparelho de Golgi

Essa organela é também conhecida como **zona** ou **complexo de Golgi**, estando constituída por um número variável de vesículas circulares achatadas e por vesículas esféricas de diversos tamanhos, que parecem brotar das primeiras (Figs. 1.2 e 1.4).

Em muitas células, o aparelho de Golgi localiza-se em posição constante, quase sempre ao lado do núcleo (Figs. 1.2 e 1.5); em outras células, ele se encontra disperso pelo citoplasma.

Essa organela tem múltiplas funções, porém é muito importante na separação e endereçamento das moléculas sintetizadas nas células, encaminhando-as para as vesículas de secreção (que serão expulsas da célula), para os lisossomos, para vesículas que permanecem no citoplasma ou para a membrana celular (ver Cap. 10).

Lisossomos

Os lisossomos são organelas de forma e tamanho muito variáveis, freqüentemente medindo 0,5-3,0 μm de diâmetro (Figs. 1.2 e 1.5), cujo interior é ácido e contém diversas enzimas hidrolíticas (enzimas que rompem moléculas, adicionando os átomos das moléculas de água). As hidrolases dos lisossomos têm atividade máxima em pH ácido. Essas enzimas são sintetizadas pelos polirribossomos que se prendem ao retículo endoplasmático ru-

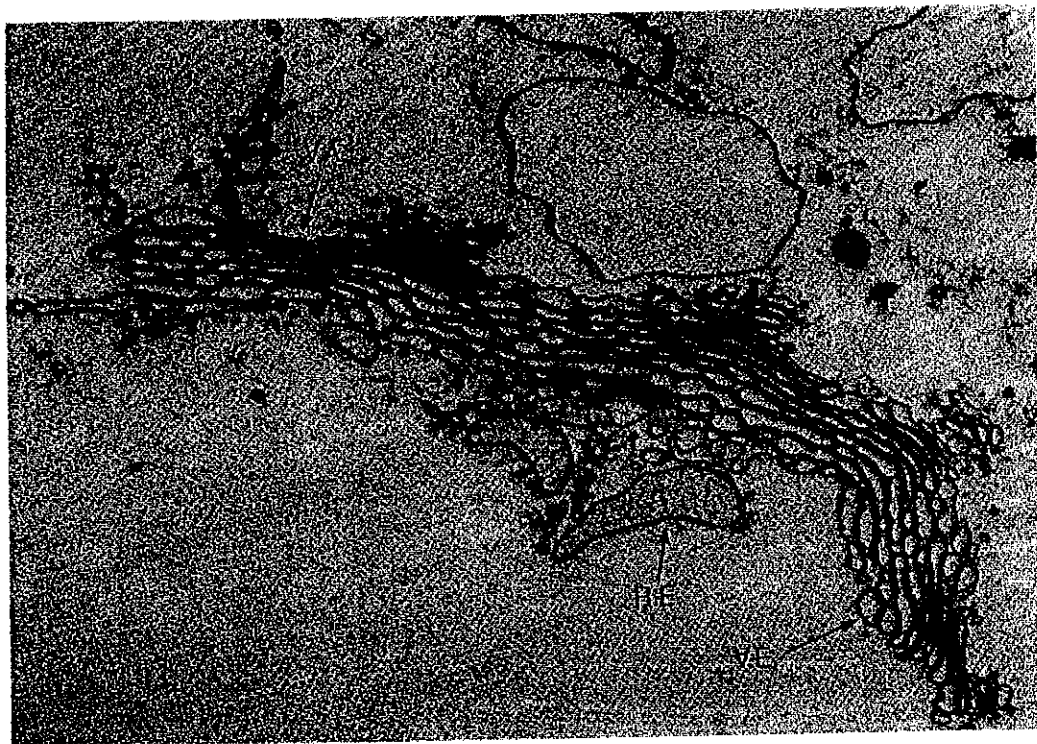


Fig. 1.4 Eletromicrografia do aparelho de Golgi isolado de célula do intestino. Essa organela é constituída de vesículas achatadas (VA) e vesículas esféricas (VE) que parecem brotar daquelas. Notar, também, alguns fragmentos do retículo endoplasmático liso, um dos quais está assinalado (RE). Aumento: 25.000 \times .

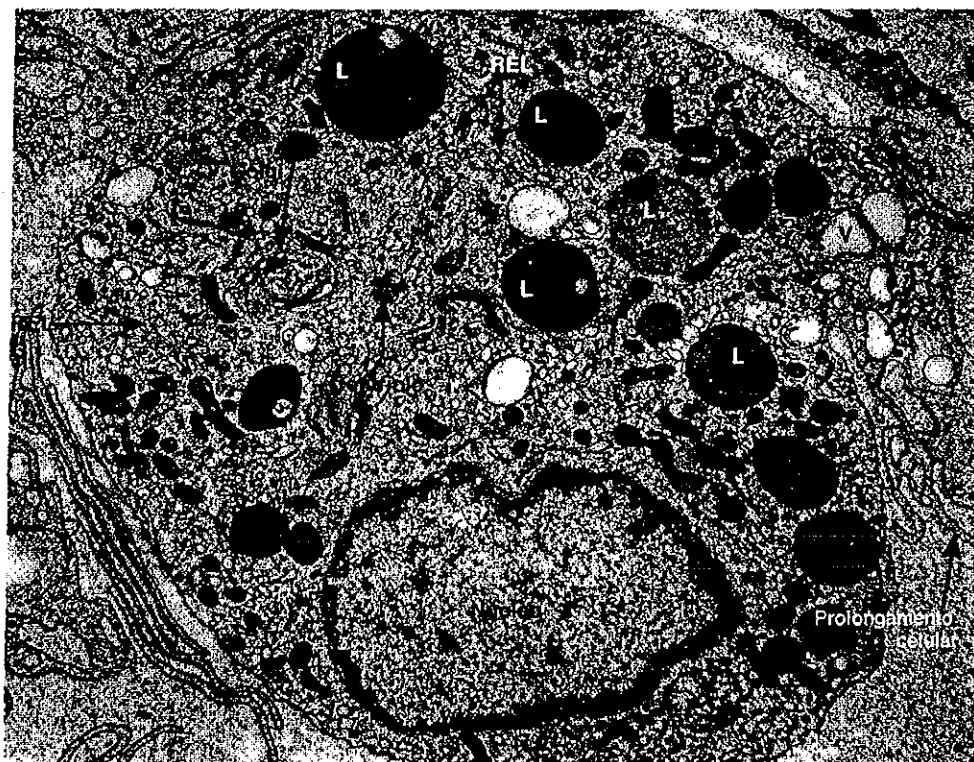
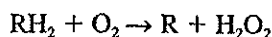


Fig. 1.5 Eletromicrografia de célula do tecido conjuntivo (macrófago). Em alguns pontos, a superfície celular apresenta prolongamentos irregulares. Observar o núcleo (o nucléolo não aparece no corte), o aparelho de Golgi, os lisossomos (L), o retículo endoplasmático liso (REL) e o centríolo. Aumento: 15.000X.

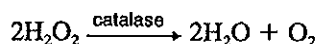
goso. Os lisossomos são depósitos de enzimas utilizadas pelas células para digerir moléculas introduzidas por pinocitose, por fagocitose, ou, então, organelas da própria célula. A destruição e renovação de organelas é um processo fisiológico que permite à célula manter seus componentes em bom estado funcional e em quantidade adequada às suas necessidades do momento. As organelas desgastadas pelo uso são eliminadas e substituídas por organelas novas. As que não são mais necessárias são simplesmente removidas.

Peroxisissomos

Os **peroxissomos** são organelas caracterizadas pela presença de enzimas oxidativas que transferem átomos de hidrogênio de diversos substratos para o oxigênio, segundo a reação:



Os peroxissomos contêm a maior parte da catalase celular, enzima que converte peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio:



A atividade da catalase é importante porque o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que se forma nos peroxissomos é um oxidante energético e prejudicaria a célula se não fosse eliminado rapidamente.

Os peroxissomos apresentam, ao microscópio eletrônico, uma matriz granulosa envolta por membrana, e seu tamanho em geral varia de 0,3 a 1 μm . Muitos peroxissomos exibem um cristaloide, elétron-denso e constituído de catalase. Os peroxissomos são identificados ao microscópio eletrônico por darem reação positiva para a enzima catalase.

Essas organelas têm sido bem estudadas nas células do rim e do fígado de mamíferos. Entre outras enzimas, contêm catalase, enzimas da β -oxidação dos ácidos graxos, urato-oxidase e D-aminoácido-oxidase. Participam da metabolização do ácido úrico, resultante das bases púricas. A presença da enzima D-aminoácido-oxidase está provavelmente relacionada com a metabolização dos D-aminoácidos da parede das bactérias que penetram no organismo, pois as proteínas dos mamíferos são constituídas exclusivamente por L-aminoácidos. Os peroxissomos têm também um papel na desintoxicação. Por exemplo, cerca da metade do álcool etílico (etanol) consumido por uma pessoa é destruído por oxidação nos peroxissomos, principalmente nos peroxissomos do fígado e dos rins. Os peroxissomos participam, como as mitocôndrias, da β -oxidação dos ácidos graxos, assim chamada porque os ácidos graxos são rompidos no carbono da posição dois ou beta. Os peroxissomos catalisam a degradação dos ácidos graxos, produzindo acetil-CoA, que pode penetrar nas mitocôndrias, onde vai participar da síntese de ATP por meio do ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs). As moléculas de acetil-CoA podem ser utilizadas em outros compartimentos citoplasmáticos para a síntese de moléculas diversas. Calcula-se que 30% dos ácidos graxos sejam oxidados em acetil-CoA nos peroxissomos.

O conteúdo enzimático dos peroxissomos varia muito de uma célula para a outra, notando-se ainda que, numa mesma célula, nem todos os peroxissomos têm a mesma composição enzimática. Essas enzimas são produzidas pelos polirribossomos do citossol, conforme as necessidades da célula e, muitas vezes, como uma adaptação para a destruição de moléculas estranhas que penetram na célula, como álcool etílico e drogas diversas.

Receptores da membrana dos peroxissomos captam proteínas sintetizadas no citossol e que contêm um sinal específico

Os peroxissomos crescem pela incorporação de proteínas sintetizadas nos polirribossomos livres no citossol, e que contêm uma sequência especial de três aminoácidos próximos à extremidade carboxila da molécula protéica. Essa sequência é reconhecida por receptores da membrana, e a proteína é transportada para o interior dos peroxissomos. Assim, os peroxissomos crescem e, após atingirem certo tamanho, dividem-se por fissão (Fig. 1.6). O processo foi bem estudado tomando-se como modelo a catalase. A molécula de catalase é constituída por quatro polipeptídeos idênticos, cada um deles ligado a um grupo heme. A catalase é liberada pelos polirribossomos no citossol sob a forma de polipeptídeos, sem o grupo heme, denominados apocatalase. As moléculas de apocatalase, que contêm o sinal para os peroxissomos, são reconhecidas pela membrana dos peroxissomos e penetram nessa organela, onde se unem para formar os tetrâmeros, que, em seguida, recebem quatro grupos heme.

As moléculas receptoras, que ficam presas nas membranas dos peroxissomos, fazendo saliência na face citoplasmática, também são sintetizadas nos polirribossomos livres e captadas — porém não introduzidas — no peroxissomo, permanecendo presas na superfície da membrana dessa organela.

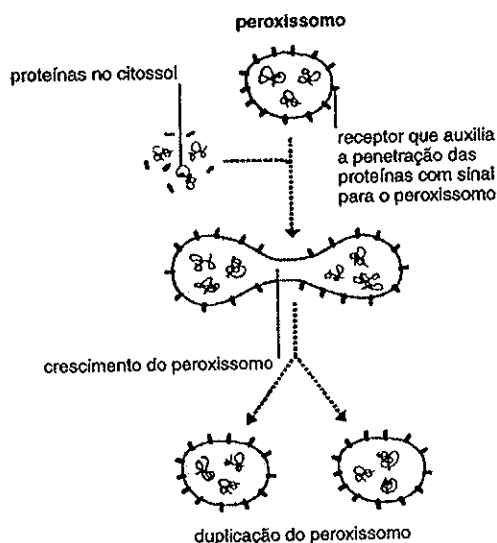


Fig. 1.6 Os peroxissomos se multiplicam por um processo ainda pouco conhecido de divisão binária. O desenho mostra que as proteínas para essa organela são sintetizadas no citossol. Algumas ficam presas à membrana do peroxissomo, porém determinadas proteínas têm sinais peptídicos (seqüências de aminoácidos) que marcam sua destinação para o interior dos peroxissomos. Essas moléculas protéicas atravessam a membrana e vão aumentar o tamanho da organela que, finalmente, se divide em duas.

Doenças humanas por defeitos nos peroxissomos

A síndrome cérebro-hepatorrenal, ou síndrome de Zellweger, é um distúrbio hereditário raro, onde aparecem diversos defeitos neurológicos, hepáticos e renais, que levam à morte muito cedo, geralmente na infância. Foi observado que o fígado e os rins desses pacientes apresentam peroxissomos vazios, constituídos somente pelas membranas, sem as enzimas normalmente localizadas no interior dessas organelas. Essas enzimas aparecem livres no citossol, onde não podem funcionar normalmente. Portanto, as células desses pacientes não perderam a capacidade de sintetizar as enzimas típicas dos peroxissomos, mas sim a possibilidade de transferir para os peroxissomos as enzimas produzidas. O estudo genético dos portadores da síndrome de Zellweger detectou mutações em cerca de 11 genes, todos codificadores de proteínas que participam do processo de importação de enzimas pelos peroxissomos. Esses genes já foram isolados e foi demonstrado que as proteínas que eles codificam são receptores para enzimas dos peroxissomos, ou então de algum outro modo participam da maquinaria responsável pela introdução das enzimas nos peroxissomos. O número de genes e proteínas envolvido mostra a complexidade do processo de translocação de enzimas para dentro dessas organelas.

Outras doenças hereditárias dos peroxissomos são devidas à falta de apenas uma enzima, ao contrário do que acontece na síndrome de Zellweger. A adrenoleucodistrofia é um exemplo de deficiência em apenas uma enzima dos peroxissomos. Trata-se de uma mutação no cromossomo X que, geralmente, se manifesta nos meninos antes da puberdade, quando aparecem sintomas de deficiência na secreção da glândula adrenal e disfunções neurológicas. Os defeitos resultam do acúmulo nos tecidos de numerosas moléculas de ácidos graxos saturados de cadeia muito longa, porque os peroxissomos desses doentes não oxidam os ácidos graxos saturados de cadeia muito longa. Por se tratar de defeito em um único gene, que já foi isolado, é possível que se chegue a um tratamento por meio das técnicas de DNA recombinante (engenharia genética).

Citoesqueleto

Muitas células têm forma irregular, existindo algumas, como os neurônios ou células nervosas, com prolongamentos muito longos. Além disso, o núcleo, organelas, vesículas de secreção e outros componentes celulares têm localização definida, quase sempre constante, conforme o tipo celular. Essas observações levaram os pesquisadores a admitirem a existência de um citoesqueleto que desempenharia apenas um papel mecânico, de suporte, mantendo a forma celular e a posição de seus componentes. Estudos posteriores, além de confirmarem a existência do citoesqueleto, mostraram que seu papel funcional é muito mais amplo. Ele estabelece, modifica e mantém a forma das células. É responsável também pelos movimentos celulares como contração, formação de pseudópodos e deslocamentos intracelulares de organelas, cromossomos, vesículas e grânulos diversos. Os principais elementos do citoesqueleto são os microtúbulos, filamentos de actina e filamentos intermediários. Os microtúbulos e os microfilamentos de actina, com a cooperação das proteínas motoras (ver Cap. 7), participam

dos movimentos celulares e dos deslocamentos de partículas dentro das células.

Depósitos citoplasmáticos

O citoplasma pode conter, conforme o tipo celular estudado e seu estado funcional, acúmulos, geralmente temporários, de substâncias diversas, não envoltas por membrana.

São freqüentes os depósitos do polissacarídeo **glicogênio**, sob a forma de grânulos esféricos com 30 nm de diâmetro, que podem existir isoladamente ou agrupados (Fig. 1.7). O glicogênio, um polímero da glicose, é uma reserva energética para as células animais. Muitas células contêm **gotículas lipídicas** (Fig. 1.8) de constituição química e tamanho muito variáveis.

Depósitos de **pigmentos** também não são raros. Um exemplo é a **melanina**, encontrada nos cromatóforos e nas células da epiderme (camada mais superficial da pele). Outro exemplo é a **lipofuscina**, pigmento pardo que se acumula em algumas células de vida longa, como neurônios e células musculares cardíacas, à medida que elas envelhecem.

Os depósitos contendo pigmento são, em parte, responsáveis pela cor dos seres vivos, com implicações nos processos de mimetismo, na atração para acasalamento e na proteção contra as radiações ultravioleta da luz do Sol.

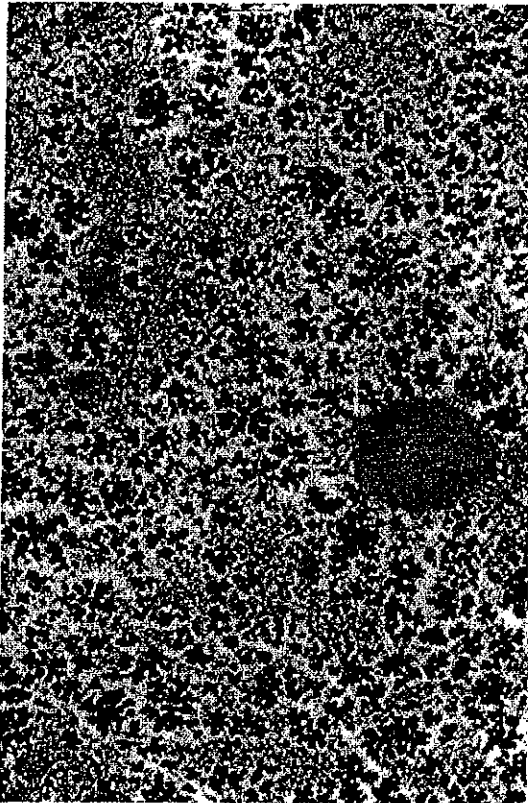


Fig. 1.7 Micrografia eletrônica mostrando grânulos de glicogênio, a maioria dos quais forma aglomerados (setas). Célula do fígado. Aumento: 62.000X.

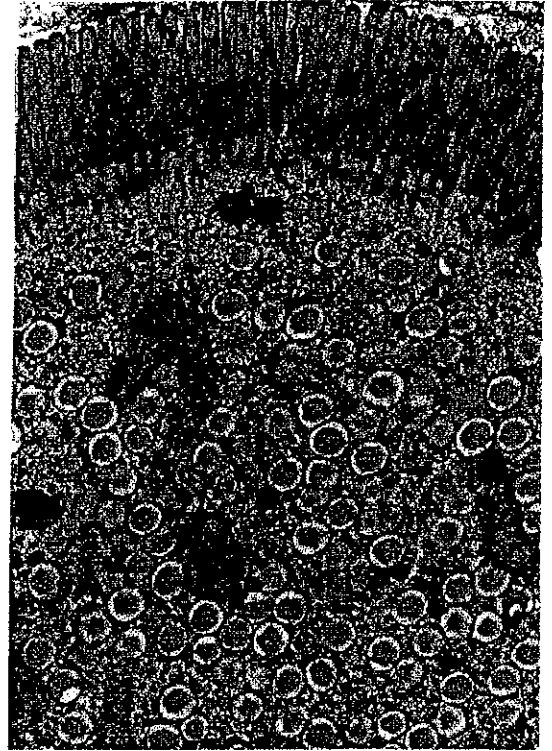


Fig. 1.8 Eletromicrografia mostrando depósitos temporários de lipídios no citoplasma de célula absorviva do intestino delgado. Essas células apresentam muitos prolongamentos em sua superfície livre, os **microvilos** ou **microvilosidades**. Notar mitocôndrias (M) e lisossomos (L). Depois de absorvidos pelas células, os lipídios se acumulam temporariamente nas cisternas do retículo endoplasmático liso, estando envoltos por membranas do retículo endoplasmático liso (setas). Aumento: 10.000X. (Cortesia de H. I. Friedman.)

O núcleo contém os cromossomos e é separado do citoplasma por membrana dupla, o envoltório nuclear

Uma das principais características da célula eucarionte é a presença de um núcleo de forma variável, porém bem individualizado e separado do restante da célula por duas membranas. Todavia, essa membrana dupla, chamada **envoltório nuclear**, possui poros que regulam o intenso trânsito de macromoléculas do núcleo para o citoplasma e deste para o núcleo. Todas as moléculas de RNA do citoplasma são sintetizadas no núcleo, e todas as moléculas protéicas do núcleo são sintetizadas no citoplasma. A membrana externa do envoltório nuclear contém polirribossomos, fazendo parte do retículo endoplasmático rugoso (Fig. 1.2).

Cromatina

A observação microscópica dos preparados fixados mostra que o núcleo celular contém grânulos de tamanho variável e forma irregular, que se coram intensamente por corantes básicos. O material que constitui esses grânulos foi chamado de **cromatina**, numa época em que nada se conhecia sobre a sua constituição química. Hoje se sabe que a cromatina é constituída por ácido desoxirribonucleico (DNA) associado a proteínas. As células

eucariontes contêm uma quantidade muito maior de DNA, que apresenta grande complexidade, estando associado a diversas proteínas como as histonas. As proteínas têm importante papel nas funções e na organização do DNA, tanto no núcleo interfásico, isto é, que não está em mitose, como na condensação dos cromossomos na divisão celular.

Nucléolo

Os nucléolos são corpúsculos em geral esféricos, geralmente visíveis nas células vivas, examinadas ao microscópio sem qualquer coloração.

Os nucléolos contêm grande quantidade de ácido ribonucleico (RNA) e de proteínas básicas, ao lado de pequena quantidade de DNA. Geralmente, os nucléolos são basófilos devido ao RNA, que se cora por corantes básicos. Contudo, os que apresentam elevado teor de proteínas básicas, que têm afinidade pelos corantes ácidos, são acidófilos (o significado da **basofilia** e da **acidofilia** será explicado no Cap. 2).

Características que distinguem as células eucariontes vegetais das animais

As células dos vegetais superiores (plantas) são eucariontes e assemelham-se, em sua estrutura básica, às células animais. As principais diferenças serão citadas a seguir, e, para maiores detalhes, deve ser consultado o Cap. 13.

1. **Presença de paredes.** Além da membrana plasmática, as células das plantas contêm uma ou mais paredes rígidas que lhes conferem forma constante e protegem o citoplasma principalmente contra agressões mecânicas e a ação de parasitas.
2. **Presença de plastídios.** Uma das principais características das células das plantas é a presença dos plastídios, também chamados **plastos**, que são organelas maiores do que as mitocôndrias e, como elas delimitadas por duas unidades de membrana. Os plastídios que não contêm pigmentos são chamados **leucoplastos**. Os que contêm pigmentos são os **cromoplastos**, dos quais os mais frequentes são os **cloroplastos**, ricos em clorofila, principal pigmento fotossintético.
3. **Vacúolos citoplasmáticos.** As células das plantas contêm, com frequência, vacúolos citoplasmáticos muito maiores do que os que existem no citoplasma das células animais. Os vacúolos das células vegetais podem ocupar a maior parte do volume celular, reduzindo-se o citoplasma funcional a uma delgada faixa na periferia da célula.
4. **Presença de amido.** Ao contrário das células eucariontes animais, que utilizam o polissacarídeo glicogênio como reserva energética, nas células das plantas o polissacarídeo de reserva é o amido.
5. **Presença de plasmodesmos.** As células vegetais possuem tubos com 20-40 nm de diâmetro ligando células vizinhas. Essas conexões são chamadas **plasmodesmos** e estabelecem canais para o trânsito de moléculas. As células animais não apresentam plasmodesmos; porém, muitas se comunicam por meio das **junções comunicantes** (ver Cap. 5), que são morfologicamente muito diferentes, mas apresentam semelhanças funcionais com os plasmodesmos.

Origem e evolução das células

Admite-se que o processo evolutivo que originou as primeiras células começou na Terra a aproximadamente 4 bilhões de anos. Naquela época, a atmosfera provavelmente continha vapor d'água, amônia, metano, hidrogênio, sulfeto de hidrogênio e gás carbônico. O oxigênio livre só apareceu muito depois, graças à atividade fotossintética das células autotróficas.

Há 4 bilhões de anos, a superfície da Terra estaria coberta por grande quantidade de água, disposta em grandes "oceanos" e "lagos". Essa massa líquida, chamada de **caldo primordial**, era rica em moléculas inorgânicas e continha em solução os gases que constituíam a atmosfera daquela época. Sob a ação do calor e da radiação ultravioleta, vindos do Sol, e de descargas elétricas, oriundas das tempestades que eram muito frequentes, as moléculas dissolvidas no caldo primordial combinaram-se quimicamente para constituírem os primeiros compostos contendo carbono. Substâncias relativamente complexas como proteínas e ácidos nucleicos, que, nas condições terrestres atuais, só se formam pela ação das células ou por síntese nos laboratórios químicos, teriam aparecido espontaneamente, ao acaso. Esse tipo de síntese, realizada sem a participação de seres vivos, é denominada **prebiótica**, e já foi demonstrado experimentalmente que ela é possível (Fig. 1.9). O acúmulo gradual dos compostos de carbono foi favorecido por três circunstâncias: (1) a enorme extensão da Terra, com grande variedade de nichos, onde provavelmente ocorreu a formação de moléculas que foram mantidas próximas umas das outras e, certamente, diferentes das existentes em outros locais; (2) o longo tempo, cerca de 2 bilhões de anos, período em que ocorreu a síntese prebiótica no caldo primordial; e (3) a ausência de oxigênio na atmosfera, já mencionada, e importante porque assim as moléculas neoformadas não foram logo destruídas por oxidação. Na atmosfera atual da Terra, a síntese do tipo prebiótico é impossível.

É provável que no caldo primordial tenham surgido polímeros de aminoácidos e de nucleotídeos, formando-se assim as primeiras moléculas de proteínas e de ácidos nucleicos. Todavia, somente ácidos nucleicos são capazes de autoduplicação, e a demonstração experimental recente de que, em laboratório, moléculas de RNA simples são capazes de evoluir para moléculas mais complexas, sem auxílio de proteínas enzimáticas, faz supor que a evolução começou com moléculas de RNA. Como será visto adiante, no Cap. 3, o RNA pode ter atividade enzimática, propriedade que já se pensou ser exclusiva das proteínas. Aparecidas as primeiras moléculas de RNA com capacidade de se multiplicarem e de evoluir, estava iniciado o caminho para as primeiras células. Porém, era necessário que o sistema autocatalítico ficasse isolado, para que as moléculas não se dispersassem no líquido prebiótico. Provavelmente ao acaso, formaram-se moléculas de fosfolipídios que, espontaneamente, constituíram as primeiras bicamadas fosfolipídicas, e estas podem ter envolto conjuntos de moléculas de ácidos ribonucleicos, nucleotídeos, proteínas e outras moléculas. Estava, assim, constituída a primeira célula, com sua membrana fosfolipídica. Os fosfolipídios são moléculas alongadas, com uma cabeça hidrofílica e duas cadeias hidrofóbicas. Quando estão dissolvidas em água, as moléculas de fosfolipídios se prendem por interação hidrofóbica de suas cadeias e constituem bicamadas espontaneamente, sem necessidade de energia (ver Cap. 5).

Os dados hoje disponíveis permitem supor que, em seguida ao ácido ribonucleico (RNA), deve ter surgido o ácido desoxirribonucleico (DNA), formado pela polimerização de nucleotídeos sobre um molde (*template*) de RNA, e os dois tipos de ácidos

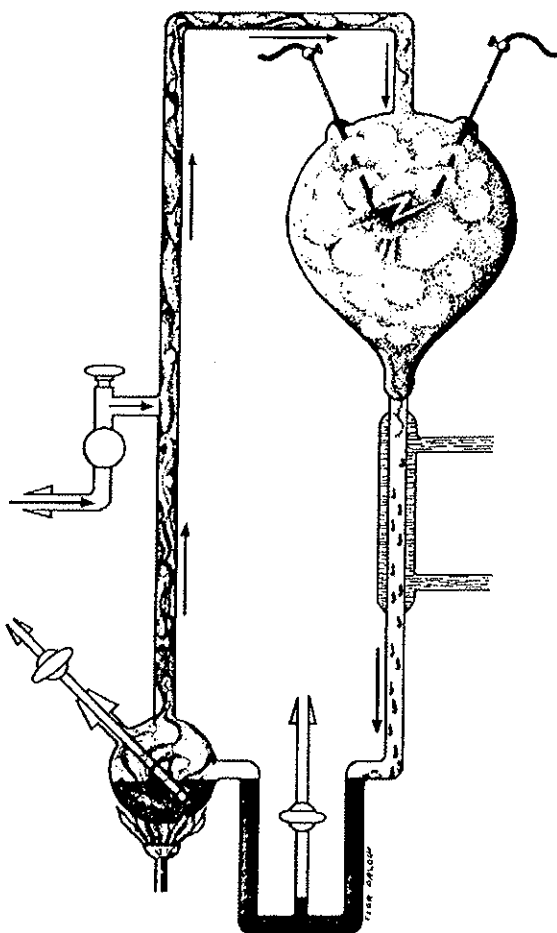


Fig. 1.9 Aparelho criado por Stanley L. Miller para demonstrar a síntese de moléculas orgânicas, sem a participação de seres vivos (síntese prebiótica), nas condições da atmosfera terrestre há cerca de 4 bilhões de anos. O aparelho continha vapor d'água, proveniente do aquecimento do balão inferior. Pela torneira superior esquerda introduziam-se, na coluna, metano, amônia, hidrogênio e gás carbônico. Ao passar pelo balão superior direito, a mistura era submetida a centelhas elétricas. A mistura tornava-se líquida no condensador e era recolhida pela torneira inferior. Observou-se que esse líquido continha diversas moléculas de compostos de carbono (orgânicas), inclusive aminoácidos.

nucleicos passaram a determinar os tipos de proteínas a serem sintetizadas. Considerando a enorme variedade de proteínas celulares, formadas por 20 monômeros diferentes (os 20 aminoácidos), é pouco provável que todas as proteínas se tenham formado por acaso. A síntese das proteínas deve ter sido dirigida pelos ácidos nucleicos, com eliminação das proteínas inúteis, pelo próprio processo evolutivo.

É razoável supor que a primeira célula que surgiu era estruturalmente simples, certamente uma procarionte heterotrófica, e, também, que essa célula foi precedida por agregados de RNA, DNA e proteínas, envoltos por bicamada de fosfolípidios. Esses agregados continuaram o processo evolutivo iniciado pelas moléculas de RNA, e deram origem às primeiras células, que devem ter sido procariontes estruturalmente simples.

Como essas primeiras células procariontes eram heterotróficas e, portanto, incapazes de sintetizar compostos ricos em energia (alimentos), o processo evolutivo teria sido interrompido pelo

esgotamento dos compostos de carbono formados pelo processo prebiótico, nos nichos onde surgiram as células primordiais. Essas primeiras células, além de procariontes e heterotróficas, eram também anaeróbias, pois não existia oxigênio na atmosfera. Teria sido difícil sustentar o processo evolutivo das células primitivas, se elas tivessem permanecido dependentes, para sua nutrição, das moléculas energéticas formadas por síntese prebiótica no caldo primordial.

A manutenção da vida na Terra dependeu, então, do aparecimento das primeiras células autotróficas, ou seja, capazes de sintetizar moléculas complexas a partir de substâncias muito simples e da energia solar. Admite-se que tenha surgido, em células procariontes, um sistema capaz de utilizar a energia do Sol e armazená-la em ligações químicas, sintetizando assim alimentos e liberando oxigênio. Esse novo tipo celular seria provavelmente muito semelhante às "algas azuis" ou cianofíceas, que são bactérias ainda hoje existentes. Iniciou-se, assim, a fotossíntese, que ocorreu graças ao aparecimento, nas células, de certos pigmentos, como a clorofila (pigmento de cor verde), que capta as radiações azul e vermelha da luz do Sol, utilizando sua energia para ativar processos sintéticos.

O oxigênio liberado pela fotossíntese realizada pelas bactérias autotróficas foi-se acumulando na atmosfera. Isso veio a produzir grandes alterações na atmosfera, pois as moléculas do gás oxigênio (O_2) se difundiram para as alturas mais elevadas da atmosfera, onde se romperam sob ação da radiação ultravioleta, originando átomos de oxigênio, muitos dos quais se recombinaram para formar ozônio (O_3), que tem grande capacidade de absorver o ultravioleta. Desse modo, formou-se, pouco a pouco, uma camada de ozônio que protege a superfície da Terra contra a radiação ultravioleta, mas que é transparente aos comprimentos de onda visíveis.

O início da fotossíntese e as modificações da atmosfera foram de grande importância para a evolução das células e das formas de vida hoje existentes na Terra. Graças à fotossíntese, surgiu o oxigênio na atmosfera, e isso permitiu o aparecimento de células aeróbias, ao mesmo tempo que criou uma cobertura protetora de ozônio nas camadas superiores da atmosfera. As bactérias anaeróbias ficaram restritas a nichos especiais, onde não existe oxigênio.

Supõe-se que o passo seguinte no processo evolutivo, depois das células procariontes autotróficas, foi o aparecimento das células eucariontes. Tudo indica que as células eucariontes, caracterizadas por seu elaborado sistema de membranas, se tenham originado a partir de procariontes, por invaginações da membrana plasmática, que foi puxada por proteínas contráteis previamente aparecidas no citoplasma (ver adiante, neste capítulo). Essa hipótese é apoiada pela observação de que as membranas intracelulares mantêm, aproximadamente, a mesma assimetria que existe na membrana plasmática. A face das membranas internas que está em contato com o citossol (matriz citoplasmática) assemelha-se à sua equivalente na membrana plasmática, e o mesmo acontece com a face voltada para o interior dos compartimentos intracelulares, que tem semelhança com a face externa da membrana plasmática (Fig. 1.10). A interiorização da membrana foi fundamental para a evolução das células eucariontes, pois formou diversos compartimentos intracelulares, como o retículo endoplasmático, endossomos, lisossomos e aparelho de Golgi, que são microrregiões, cada uma com sua composição enzimática típica e atividades funcionais específicas. Esta separação molecular e funcional aumenta muito a eficiência dos processos celulares.

Há evidências sugestivas de que as organelas envolvidas nas transformações energéticas, cloroplastos e mitocôndrias, se originaram de bactérias que foram fagocitadas, escaparam dos mecanis-

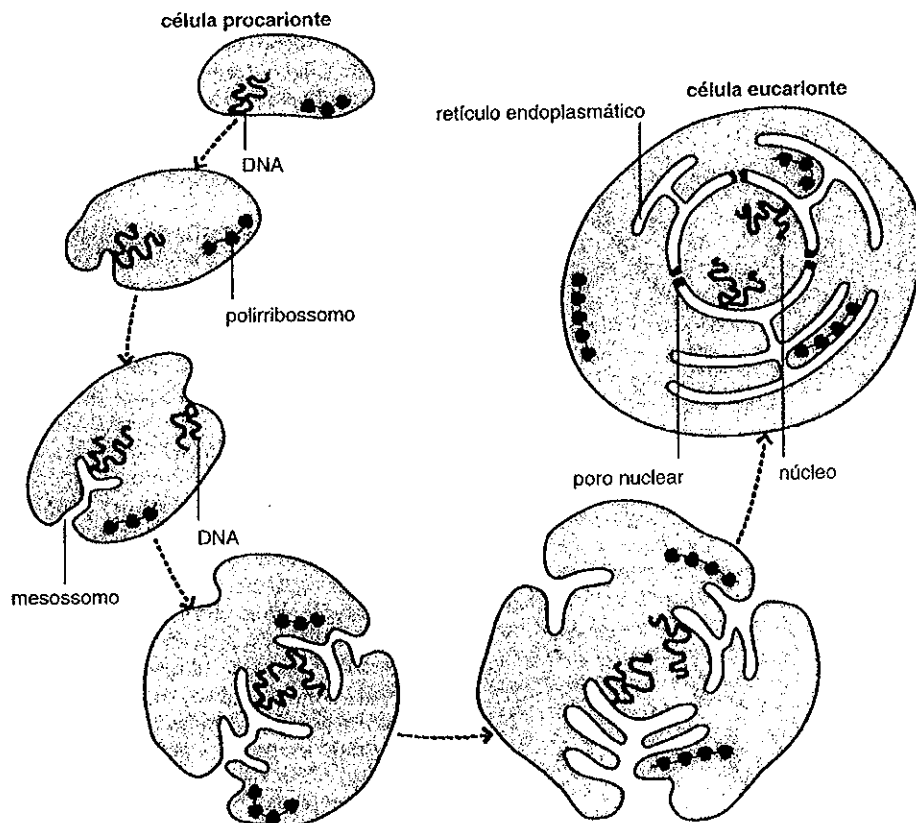


Fig. 1.10 Desenho mostrando como, provavelmente, apareceram os compartimentos intracelulares, por invaginações da membrana plasmática. Essa hipótese é apoiada pela observação de que as membranas intracelulares têm constituição molecular muito semelhante à da membrana plasmática.

mos de digestão intracelular e se estabeleceram como simbioses (endossimbiontes) nas células eucariontes hospedeiras, criando um relacionamento mutuamente benéfico e que se tornou irreversível com o passar dos anos (Fig. 1.11), devido a mutações ocorridas no endossimbionte (chama-se endossimbionte a um simbiote intracelular). As principais evidências a favor dessa hipótese são:

- mitocôndrias e cloroplastos possuem um genoma de DNA circular, como o das bactérias;
- essas organelas têm duas membranas, sendo a membrana interna semelhante, em sua composição, às membranas bacterianas, enquanto a membrana externa, que seria a parede do vacúolo fagocitário, assemelha-se à membrana das células eucariontes hospedeiras.

Além disso, simbiose entre bactérias e células eucariontes continua acontecendo, sendo inúmeros os casos atualmente existentes.

Ao longo da evolução, tanto as mitocôndrias como os cloroplastos foram perdendo seu genoma para o núcleo da célula hospedeira, tornando-se dependentes do DNA dos cromossomos das células hospedeiras. A maior parte das proteínas das mitocôndrias e dos cloroplastos é codificada por RNA mensageiro proveniente do núcleo celular, sintetizadas nos polirribossomos da matriz citoplasmática e, depois, transferidas para dentro das mitocôndrias e cloroplastos.

Como teriam surgido as células eucariontes?

O aparecimento das células eucariontes, durante o lento processo evolutivo, é um aspecto de difícil elucidação, principalmente porque não existem hoje células intermediárias entre procariotes e eucariontes, o que facilitaria a elucidação dessa modificação evolutiva.

Parece claro que, embora as mitocôndrias e os cloroplastos sejam derivados de células procariotas, é difícil imaginar a formação de uma célula eucarionte pela simples união entre duas células procariotas típicas. Uma delas deve ter sofrido modificações evolutivas que não foram conservadas nas células procariotas atuais. É possível que as células eucariontes tenham evoluído gradualmente, na sequência exposta a seguir (Fig. 1.12).

Uma célula procariota heterotrófica e anaeróbia, já com o sistema DNA→RNA→Proteína funcionando, teria perdido a parede celular e, aos poucos, aumentado de tamanho e formado invaginações na membrana plasmática. Admite-se que, nessas reentrâncias, acumularam-se enzimas digestivas que permitiram uma melhor digestão das partículas de alimentos. Então, algumas invaginações se desprenderam da membrana, formando vesículas membranosas que deram origem ao sistema lisossômico, às vesículas precursoras do retículo endoplasmático, e levaram para a parte profunda da célula o DNA que estava preso à membrana plasmática. Com o aparecimento de oxigênio na atmosfera, devido às bactérias fotossintéticas, devem ter surgido os peroxis-

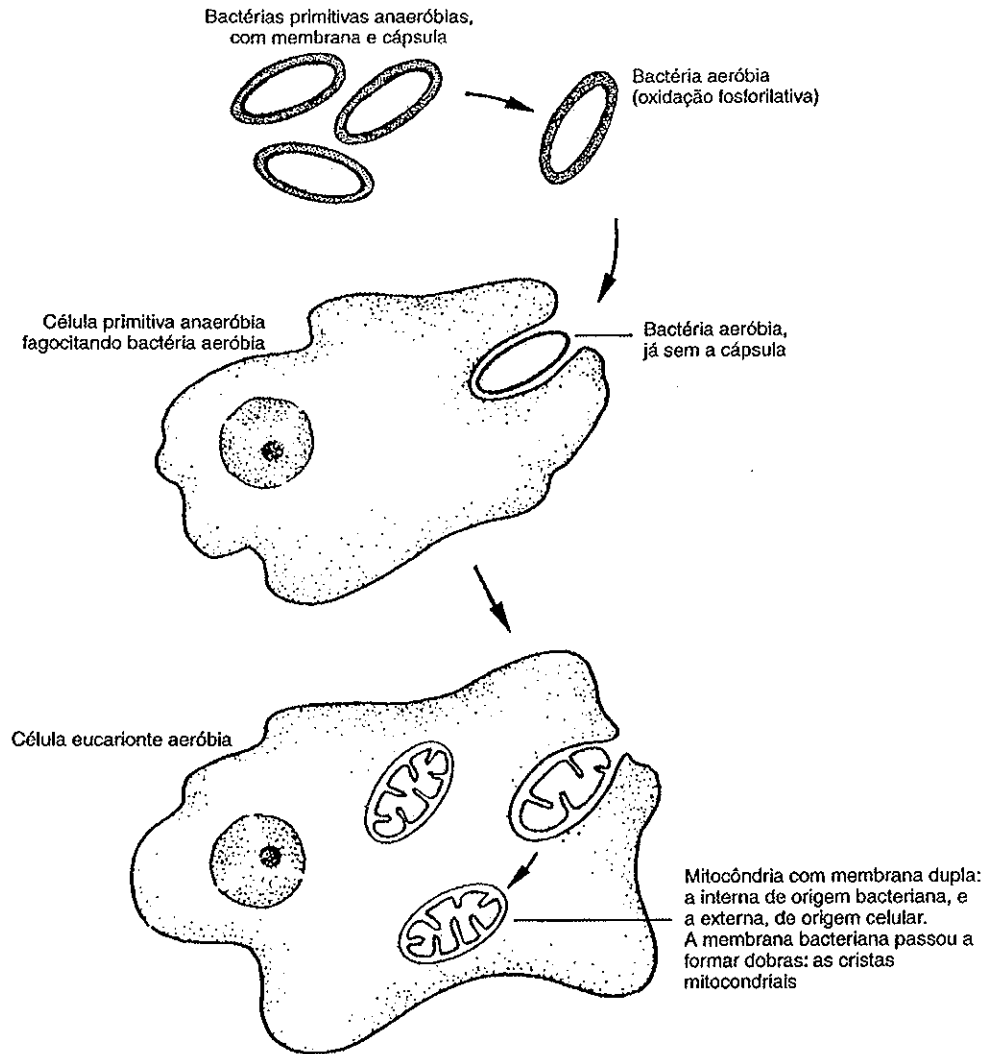


Fig. 1.11 Desenho esquemático mostrando a teoria da origem bacteriana das mitocôndrias, por **endossimbiose**. Células eucariontes anaeróbias, primitivas, teriam fagocitado bactérias aeróbias. Estas, de algum modo, escaparam à digestão intracelular e estabeleceram inter-relações mutuamente úteis com as células hospedeiras, que assim se tornaram aeróbias. Ao mesmo tempo, as bactérias, entre outras vantagens, receberam proteção e alimentação em sua nova localização no citoplasma da célula hospedeira.

somos, defendendo as células contra a ação deletéria de radicais livres contendo oxigênio. Houve um aumento de DNA, paralelo à crescente complexidade celular, e esse DNA, constituído de longas fitas, foi concentrado em cromossomos, que foram segregados dentro do núcleo delimitado pelo envoltório nuclear que se formou a partir do material membranoso vindo da superfície celular. Houve também um desenvolvimento do citoesqueleto, com o aparecimento de microtúbulos e aumento na quantidade de microfilamentos. À medida que a concentração de oxigênio foi lentamente aumentando na atmosfera, as células que incorporaram procariontes aeróbios predominaram por seleção natural, por duas razões: a respiração aeróbia é muito mais eficiente e, além disso, gasta oxigênio, diminuindo a formação intracelular de radicais livres (radicais de oxigênio). Estes radicais oxidantes danificam muitas macromoléculas, podendo prejudicar o funcionamento das células. A **endossimbiose** (simbiose intracelular) de procariontes aeróbios deu origem às mitocôndrias, organelas com duas membranas, sendo a interna da bactéria precursora e a externa da célula eucarionte que estava em formação. Provavelmente, os cloroplastos se originaram de maneira semelhante, também por

endossimbiose, porém de bactérias fotossintéticas. Ao longo da evolução, houve transferência da parte do genoma dos cloroplastos e mitocôndrias, para os núcleos celulares. Mas os cloroplastos transferiram menos DNA, em comparação com as mitocôndrias. É possível que a endossimbiose das mitocôndrias tenha ocorrido antes da endossimbiose que originou os cloroplastos.

Padrões celulares e os grandes grupos de seres vivos

O sistema mais antigo de classificação, criado por Lineu, dividia os seres vivos em apenas dois reinos — o animal e o vegetal. No primeiro estavam incluídos os heterótrofos, que se alimentam por ingestão, exceto os parasitas, que se nutrem por osmose. No reino vegetal estavam incluídos os organismos fotossintetizantes, englobando as plantas, bactérias, mixomicetos e fungos.

Em virtude dos inconvenientes óbvios da divisão dos seres vivos em dois reinos, foram criadas outras divisões, mais elabora-

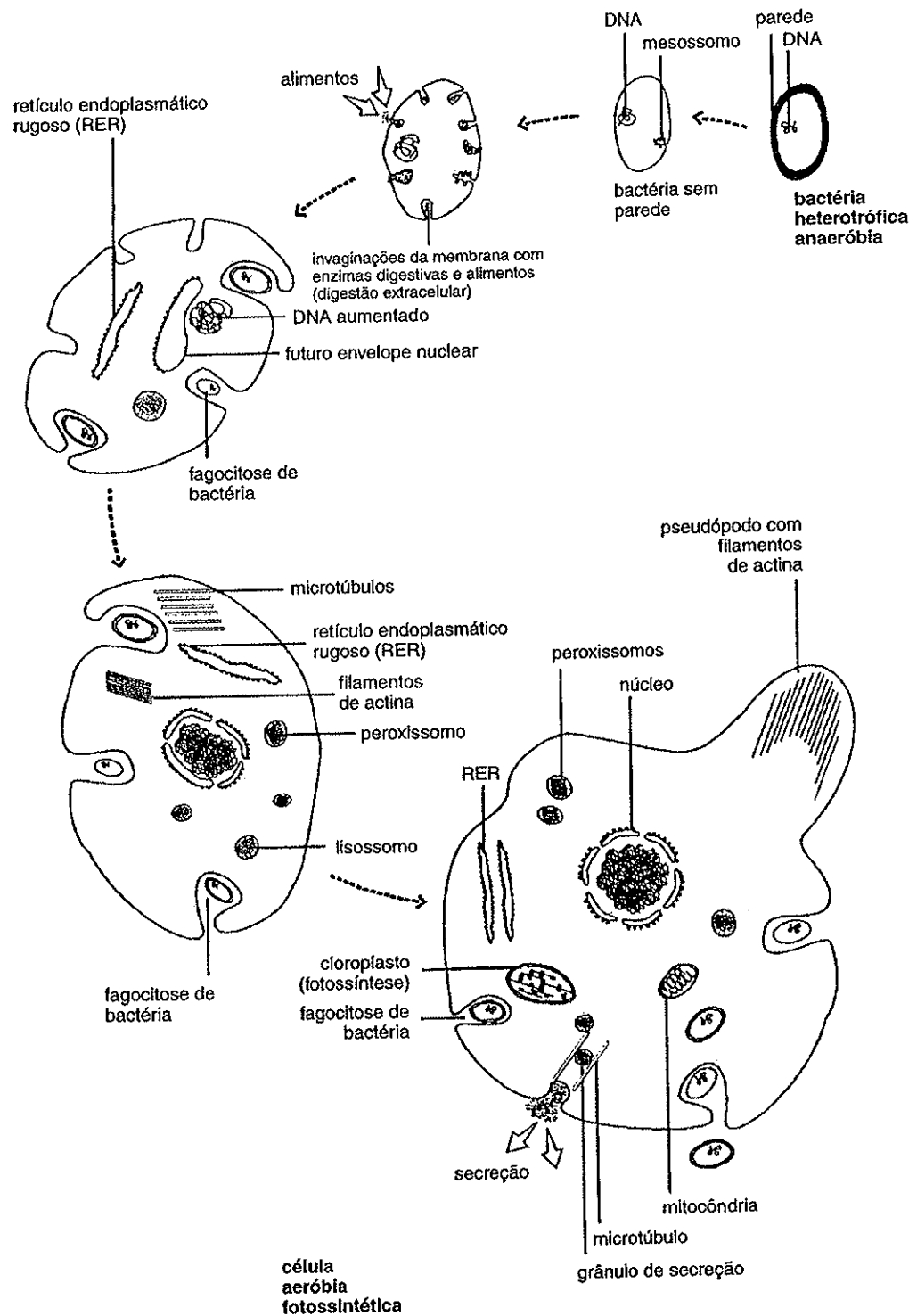


Fig. 1.12 Desenho, baseado principalmente nos trabalhos de C. De Duve, mostrando a maneira como, provavelmente, se constituíram as primeiras células eucariontes, no longo processo evolutivo que precedeu o aparecimento dos seres pluricelulares. Para explicações, ver no texto o subtítulo *Como teriam surgido as células eucariontes?*

das e mais condizentes com os novos conhecimentos. Um sistema ainda usado, porém, como o de Lineu, baseado principalmente na estrutura dos seres vivos e no modo de captação de nutrientes, admite cinco reinos (Fig. 1.13):

Monera. Formado pelas bactérias, que são os únicos seres procariontes (as cianofíceas, ou "algas azuis", também são bactérias).

Protista. Que compreende organismos eucariontes primariamente unicelulares de vida livre ou unicelulares coloniais (protozoários e fitoflagelados).

Fungi. Compreendendo todos os fungos.

Plantae. Que inclui as algas clorofíceas e os vegetais superiores.

Animalia. Incluindo todos os animais, isto é, os seres que durante o desenvolvimento embrionário passam pelo estágio de gástrula.

O conceito atual de protista não é o mesmo proposto por Haeckel no passado. Hoje incluem-se entre os protistas os protozoários e os organismos limítrofes, como os fitoflagelados, que sempre foram objeto de disputa, pois eram incluídos por uns entre os animais e, por outros, entre os vegetais, na antiga classificação em dois reinos.

Na classificação de Lineu, os fungos eram considerados vegetais (porque não têm mobilidade) sem clorofila, porém foram depois colocados em grupo separado, porque apresentam algumas características próprias, não compartilhadas nem pelos animais nem pelos vegetais:

- não possuem clorofila nem quaisquer outros pigmentos fotossintetizantes
- não formam tecidos verdadeiros
- não possuem parede de celulose (característica dos vegetais), mas sim fundamentalmente composta de quitina (característica dos animais)
- não armazenam amido (reserva nutritiva dos vegetais) como reserva energética, mas sim glicogênio (reserva nutritiva dos animais).

Mais recentemente, os avanços tecnológicos da biologia molecular possibilitaram o estudo mais aprimorado das relações evolutivas entre os organismos, ou **filogênese**. De fato, a elucidação

da evolução molecular das células parece ser a melhor maneira de esclarecer as origens das células atualmente existentes e de desvendar as características das células primordiais, que apareceram há cerca de 3,5 bilhões de anos e que são as precursoras das células atuais. Esses estudos podem ser feitos através de diversos tipos de moléculas, como a sequência de aminoácidos nas proteínas e de nucleotídeos nos ácidos nucleicos, ou a presença ou ausência de enzimas importantes para o metabolismo dos organismos.

Todavia, os pesquisadores observaram que a análise da sequência de nucleotídeos no RNA dos ribossomos, ou rRNA, é uma boa maneira de estudar a filogênese. Todas as células têm ribossomos e seu RNA é muito constante em suas funções, servindo como um "relógio molecular" adequado para estimar as modificações evolutivas que ocorreram durante os bilhões de anos, desde que surgiram as primeiras células na Terra. Até mesmo modificações muito pequenas na estrutura de um RNA ribossomal fazem com que ele deixe de ser funcional. Assim, sua sequência de nucleotídeos foi bem conservada, ou seja, mantida constante, nas diversas linhas filogenéticas, e a distância evolutiva entre os organismos pode ser detectada pelas pequenas diferenças na sequência de nucleotídeos no rRNA. Os ribossomos contêm três tipos de RNA, designados 5S, 16S e 23S, nas células procariontes. Nas células eucariontes, o rRNA 16S é substituído por um rRNA 18S. A letra S, de Svedberg, indica o tamanho da molécula, que se relaciona com seu coeficiente de sedimentação numa ultracentrífuga (ver Cap. 3).

Devido ao seu tamanho conveniente, o rRNA 16S (18S nas células eucariontes) é o mais utilizado nos estudos filogenéticos. O rRNA 5S tem apenas 125 nucleotídeos, o que limita muito as informações que ele pode fornecer, enquanto o rRNA 23S, com 2.900 nucleotídeos, é muito grande e o estudo de sua molécula é mais difícil e laborioso.

Pelo estudo da sequência de nucleotídeos no rRNA 16S das células procariontes e 18S das eucariontes, foram construídas novas árvores evolutivas, que dividem os organismos em grupos diferentes dos que aparecem nas classificações anteriores (Fig. 1.14). Essa comparação entre os organismos está baseada no conceito de que organismos que se diversificaram mais cedo tiveram mais tempo para acumular modificações no seu RNA ribossomal do que os organismos que se separaram mais recentemente. Os pesquisadores que realizaram esses estudos concluíram que a célula procarionte ancestral universal se ramificou inicialmente em duas

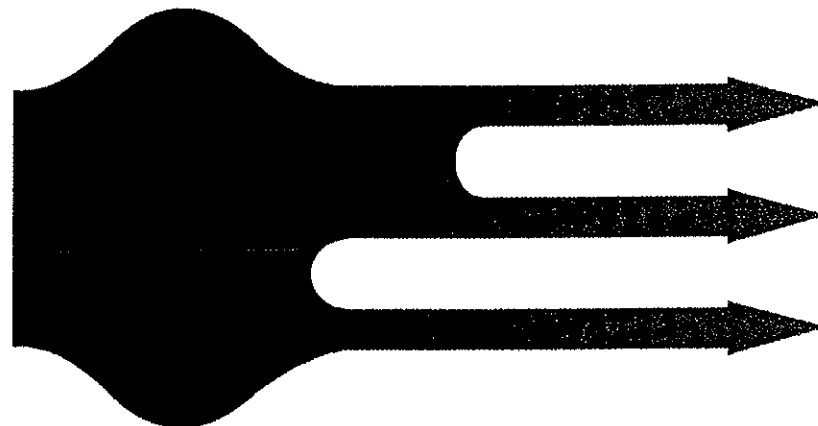


Fig. 1.14 Esquema mostrando a divisão dos seres vivos em três grupos ou domínios, baseados na sequência de nucleotídeos no RNA ribossomal. Notar que o grupo Eucária se separou do grupo Árvore posteriormente, sendo o grupo Bactéria o mais antigo. Eucária e Árvore são mais aproximados, em termos moleculares, e o grupo Bactéria é o mais afastado.

direções dando os grupos ou domínios **Árquea** e **Bactéria** (Fig. 1.14). Posteriormente e a partir do domínio **Árquea**, surgiram as primeiras células eucariontes que constituíram o domínio **Eucária**. O domínio **Árquea** compreende os procariontes metanógenos (que produzem o gás metano como produto de seu metabolismo) e os que vivem em condições extremas de alta ou baixa temperatura e salinidade, acidez ou alcalinidade elevadas. Por suas características moleculares, como a composição do rRNA, essas células procariontes mostram algumas semelhanças com os seres do domínio **Eucária** e muitas diferenças com o domínio **Bactéria**. Além de diferenças no rRNA, as células do domínio **Árquea** têm paredes celulares sem proteoglicanas, compostos encontrados nas paredes das bactérias. O domínio **Eucária** engloba todos os seres constituídos por células eucariontes, e o domínio **Bactéria** engloba as bactérias atualmente mais conhecidas e denominadas também de eubactérias.

Dentre os principais compartimentos das células eucariontes estão o núcleo, o envoltório nuclear, o retículo endoplasmático (liso e rugoso), os endossomos, o aparelho de Golgi, os lisossomos, as mitocôndrias e, nas células vegetais, os plastos ou plastídios, como os cloroplastos. Outra característica das células eucariontes é possuir citoesqueleto fibrilar, responsável pelos movimentos celulares e pela manutenção da forma — muitas vezes, altamente complexa — dessas células. O citoesqueleto é constituído de microtúbulos (cerca de 24 nm de diâmetro), filamentos intermediários (cerca de 10 nm de diâmetro) e microfilamentos de actina (cerca de 6 nm de diâmetro). Os microtúbulos e os microfilamentos de actina, junto com as proteínas motoras, participam dos movimentos da célula e dos deslocamentos intracelulares de organelas e vesículas contendo moléculas diversas.

Resumo

Os vírus são estruturas não celulares, mas só se multiplicam no interior das células, cuja maquinaria utilizam para a produção de novos vírus. Por serem parasitas intracelulares frequentes, serão estudados neste livro. Os vírus são formados de uma parte central com a informação genética codificada seja em DNA ou em RNA, mas nunca os dois ácidos nucleicos estão presentes no mesmo vírus. Esse genoma é protegido por uma estrutura que o envolve, constituída por unidades protéicas denominadas capsômeros. Alguns vírus apresentam um invólucro lipoprotéico, contendo lipídios da célula parasitada e glicoproteínas virais.

Apesar da grande diversidade entre os seres vivos, todos constituídos por células, existem apenas dois tipos celulares básicos: as células procariontes e as eucariontes.

As células procariontes são menores e caracterizam-se pela falta de um sistema de membranas que divida a célula em compartimentos funcionais. Seu cromossomo consiste em filamentos duplos de DNA, de forma circular, localizados num espaço citoplasmático onde a matriz é menos elétron-densa: o nucleóide. Geralmente, cada bactéria tem mais de uma cópia desse cromossomo simples e que além do DNA contém apenas umas poucas proteínas. Nessas células existe apenas a membrana plasmática, que pode apresentar dobras dirigidas para dentro das células: os mesossomos. Nas células procariontes fotossintéticas, como as bactérias cianofíceas, existem algumas membranas citoplasmáticas que, associadas à clorofila, são responsáveis pela fotossíntese nessas células. As células procariontes não têm citoesqueleto e são de forma simples. A forma dessas células geralmente é mantida pela presença de uma parede extracelular rígida que serve também de proteção mecânica, função importante, pois as bactérias estão presentes em nichos ecológicos muito variáveis e, algumas vezes, pouco favoráveis.

As células eucariontes apresentam-se divididas em compartimentos funcionais graças à presença de um sistema complexo de membranas que cria microrregiões intracelulares especializadas, onde certas funções podem ser executadas com mais eficiência. Além desse papel de compartimentalização, o sistema de membranas cria uma enorme superfície à qual se prendem, em seqüência predeterminada, moléculas enzimáticas e transportadoras. Assim, os substratos são processados pelos diversos componentes das cadeias enzimáticas sem que haja necessidade de grandes deslocamentos, que diminuiriam acentuadamente a rapidez e o rendimento dos processos metabólicos.

Bibliografia

- Alberts, B. et al.: *Molecular Biology of the Cell*, 3rd ed. Garland Press, 1994.
- Barghoorn, E.S.: The oldest fossils. *Sci. Am.*, 224(5):30, 1971.
- Brinkley, B.R.: Microtubule organizing centers. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1:145, 1985.
- Cech, T.R.: RNA as an enzyme. *Sci. Am.*, 255(5):64, 1986.
- De Duve, C.: *A Guided Tour of the Living Cell*, 2 vols. Freeman, 1985.
- De Duve, C.: *Blueprint for a Cell; The Nature and Origin of Life*. Neil Patterson Pub., 1991.
- De Duve, C.: The birth of complex cells. *Sci. Am.*, 274(4):38, 1996.
- Fahimi, H.D. and Sies, H. (eds.): *Peroxisomes in Biology and Medicine*. Springer-Verlag, 1987.
- Field, K.G. et al.: Molecular phylogeny of the animal kingdom. *Science*, 239:748, 1988.
- Fuchs, E. and Hanukoglu, I.: Unraveling the structure of the intermediate filaments. *Cell*, 34:332, 1983.
- Goodman, S.R.: *Medical Cell Biology*. Lippincott, 1994.
- Gould, S.J., Keller, G.A. and Subramani, S.: Identification of a peroxisomal targeting signal at the carboxy terminus of four peroxisomal proteins. *J. Cell Biol.*, 107:897, 1988.
- Gray, M.W.: The evolutionary origins of organelles. *Trends Genetics*, 5:294, 1989.
- Karp, G. *Cell and Molecular Biology; Concepts and Experiments*, 3rd ed. John Wiley, 1999.
- Lazarow, P.B. and Fujiki, Y.: Biogenesis of peroxisomes. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1:489, 1985.
- Lazarow, P.B.: Genetic approaches to studying peroxisome biogenesis. *Trends Biochem. Sci.*, 3:89, 1993.
- Li, W.-H.: *Molecular Evolution*. Sinauer, 1997.
- Lodish, H.F. et al.: *Molecular Cell Biology*, 3rd. ed. Freeman, 1995.
- Madigan, M.T. and Mairs, B.L.: Extremophiles. *Scient. Am.*, 276(4):66, 1997.
- Margulis, L.: *Symbiosis in Cell Evolution*. Freeman, 1981.
- Subramani, S.: Protein import into peroxisomes and biogenesis of the organelle. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 9:445, 1993.
- Vale, R.D.: Intracellular transport using microtubule-based motors. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 3:347, 1987.
- Vidal, G.: The oldest eukaryotic cells. *Sci. Am.*, 250(2):48, 1984.
- Weber, K. and Osborn, M.: The molecules of the cell matrix. *Sci. Am.*, 253(10):110, 1985.
- Woese, C.R.: Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51:221, 1987.
- Woese, C.R.: There must be a prokaryote somewhere: Microbiology's search for itself. *Microbiological Reviews*, 58:1, 1994.
- Wolfe, S.L.: *Molecular and Cellular Biology*. Wadsworth, 1993.

3

Bases Macromoleculares da Constituição Celular

ROTEIRO

- *A estrutura e o funcionamento das células dependem principalmente de macromoléculas formadas pela polimerização de monômeros.*
 - *A molécula da água é um dipolo com características especiais que a tornam indispensável à vida.*
 - *As proteínas são polímeros de 20 aminoácidos diferentes.*
 - *A estrutura das moléculas das proteínas apresenta 4 níveis de organização: primário, secundário, terciário e quaternário.*
 - *O metabolismo celular deve-se à atividade das enzimas.*
 - *Pela ação do frio, pode-se baixar ou parar, temporariamente, a ação das enzimas.*
 - *Agrupadas em sequência, muitas vezes presas a membranas, as enzimas atuam de modo mais eficiente.*
 - *Isoenzimas são moléculas ligeiramente diferentes que atuam sobre o mesmo substrato, porém com velocidades diferentes.*
 - *Os ácidos nucleicos (DNA e RNA) são polímeros de nucleotídeos.*
 - *Há três tipos de RNA, com funções diferentes: RNA de transferência, RNA mensageiro e RNA ribossomal.*
 - *O RNA pode ter ação enzimática.*
 - *A hibridização molecular permite caracterizar bem as moléculas de RNA e de DNA.*
 - *Os lipídios são componentes importantes das membranas celulares e formam reservas nutritivas.*
 - *Os polissacarídeos constituem reserva energética sob a forma de glicogênio e amido, e desempenham papel estrutural como parte das moléculas de glicoproteínas e proteoglicanas.*
-

As moléculas que constituem as células são formadas pelos mesmos átomos encontrados nos seres inanimados. Todavia, na origem e evolução das células, alguns tipos de átomos foram selecionados para a constituição das biomoléculas. Noventa e nove por cento da massa das células são formados de **hidrogênio, carbono, oxigênio e nitrogênio**, enquanto, nos seres inanimados da crosta terrestre, os quatro elementos mais abundantes são **oxigênio, silício, alumínio e sódio**. Excluindo-se a água, existe nas células predominância absoluta dos compostos de carbono, extremamente raros na crosta da Terra. Portanto, a primeira célula e as que dela evoluíram selecionaram os compostos de carbono (compostos orgânicos), cujas propriedades químicas são mais adequadas à vida.

As células são constituídas de macromoléculas poliméricas

É característica da matéria viva a presença de moléculas de alto peso, ou **macromoléculas**, que são **polímeros** constituídos pela repetição de unidades menores, chamadas **monômeros**. Os polímeros formados por monômeros semelhantes são chamados de **homopolímeros**. É o caso do glicogênio, que é constituído exclusivamente por moléculas de glicose. Os **heteropolímeros** são constituídos por monômeros diferentes. Os ácidos nucleicos, por exemplo, são heteropolímeros.

As macromoléculas existem nas células com grande diversidade não só quanto ao seu tamanho, mas, principalmente, quanto à variedade dos seus monômeros constituintes. Os polímeros encontrados nos seres vivos (**biopolímeros**) serão aqui estudados quanto à sua constituição e quanto à importância biológica dos processos de interação dessas macromoléculas. Os biopolímeros de maior importância são as proteínas, constituídas por aminoácidos; os polissacarídeos, que são polímeros de monossacarídeos; e os ácidos nucleicos (DNA e RNA), formados por nucleotídeos.

Além dos polímeros, moléculas menores como lipídios, água, sais minerais e vitaminas têm relevante papel na constituição e funcionamento das células.

A diversidade estrutural e funcional de um polímero depende da variedade de seus monômeros. Na constituição das proteí-

nas participam 20 aminoácidos diferentes, enquanto os ácidos nucleicos são formados por apenas cinco tipos de nucleotídeos (monômeros). Por isso, as proteínas têm maior polimorfismo e, conseqüentemente, maior diversidade funcional do que os ácidos nucleicos.

Freqüentemente, macromoléculas de diferentes tipos se associam para formar complexos como as lipoproteínas, glicoproteínas e proteoglicanas (proteínas combinadas com polissacarídeos) e as nucleoproteínas (ácidos nucleicos mais proteínas).

A molécula da água é assimétrica

Conforme foi visto no Cap. 1, as primeiras células surgiram na massa líquida que cobria a maior parte da superfície terrestre há bilhões de anos. Provavelmente ao acaso e a partir de moléculas orgânicas originadas antes da existência de qualquer ser vivo (origem pré-biótica), formaram-se micelas que evoluíram pelo aparecimento de uma membrana, originando-se assim as primeiras células. De tal modo a origem das células está associada à água que esta é a molécula mais abundante em todas as células, sem qualquer exceção. As moléculas de proteínas, lipídios e polissacarídeos variam de uma célula para outra, mas todas as células contêm água. Esse composto não é uma molécula inerte, com a única função de preencher espaços; ao contrário, a água e seus íons influem poderosamente na configuração e propriedades biológicas das macromoléculas.

A molécula de água é morfológica e eletricamente **assimétrica**. Os dois átomos de hidrogênio formam com o de oxigênio um ângulo que, em média, é estimado em $104,9^\circ$. Portanto, apesar de ser representada pela fórmula H-O-H, a molécula de água não é um bastão reto. Por outro lado, devido à forte atração exercida pelo núcleo do oxigênio sobre os elétrons, a molécula de água é relativamente positiva, no lado dos dois hidrogênios, e negativa no lado do oxigênio, isto é, a molécula de água é um **dipolo**. No espaço, devido à forma das órbitas do hidrogênio e oxigênio, as cargas elétricas estão distribuídas de tal forma que o oxigênio ocupa o centro e os hidrogênios (relativamente positivos) ocupam os dois extremos de um tetraedro, conforme mostra a Fig. 3.1.

Por sua natureza dipolar, a água é um dos melhores solventes conhecidos. Ela dissolve muitas substâncias cristalinas e outros

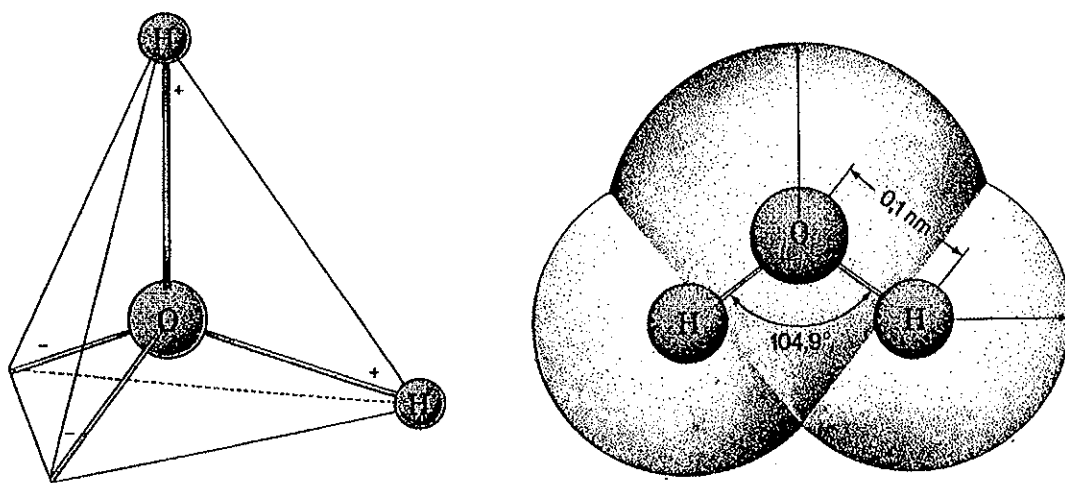


Fig. 3.1 À esquerda, esquema do dipolo da água; à direita, a forma tridimensional de sua molécula.

compostos iônicos porque sua tendência a se combinar com íons negativos ou positivos é, freqüentemente, maior que a tendência de os íons se combinarem entre si. Por exemplo, os cristais de NaCl dissolvem-se com facilidade em água porque, apesar da atração eletrostática entre o Cl^- e o Na^+ do cristal, cada um desses íons é atraído ainda mais fortemente pelo dipolo da água. Assim, o cristal se rompe, formando-se os íons hidratados de Cl^- e Na^+ , altamente estáveis.

O grau de afinidade pela água tem relevante papel nas propriedades biológicas das macromoléculas

Os polímeros celulares contêm em sua estrutura grupamentos químicos que apresentam afinidade pela água (**grupamentos polares**) ou que não apresentam afinidade pela água (**grupamentos apolares**), repelindo-a. Os grupamentos polares principais são carboxila, hidroxila, aldeído, sulfato e fosfato. Moléculas com alto teor de grupamentos polares são francamente solúveis na água e são chamadas de **hidrofílicas** (*hidro*, água, e *filos*, amigo). A maioria dos hidratos de carbono, os ácidos nucleicos e muitas proteínas são hidrofílicas. Em contraposição existem moléculas sem ou com poucos grupamentos polares e que, conseqüentemente, são insolúveis na água. São as moléculas **hidrofóbicas** (*hidro*, água, e *fobos*, aversão). Como exemplo, podem ser citados os lipídios, a parafina e os óleos. Essas moléculas são repelidas pela água.

Existem também macromoléculas, geralmente alongadas, que apresentam uma região hidrofílica e outra hidrofóbica. São as moléculas chamadas **anfipáticas**, dotadas da capacidade de associar-se simultaneamente a água e a compostos hidrofílicos por uma de suas extremidades, e a compostos hidrofóbicos, pela outra extremidade. As moléculas anfipáticas exercem importantes funções biológicas, e estão presentes em todas as membranas celulares.

A análise das forças responsáveis pela coesão dos monômeros nos biopolímeros demonstrou que existem dois tipos gerais de forças que podem ser agrupadas de acordo com a sua intensidade. Essa intensidade, por sua vez, pode ser avaliada pela energia necessária para se realizarem ou se desfazerem essas uniões (Tabela 3.1). De um lado estão as **ligações fortes**, chamadas **covalentes**. São resultantes da superposição das órbitas externas das moléculas e são uniões fortes e estáveis que consomem altas

quantidades de energia para sua realização. É o tipo de união que se observa nas ligações peptídicas entre os aminoácidos e que só podem ser desfeitas por procedimentos drásticos como a hidrólise em ácido forte a alta temperatura. Essas ligações necessitam ao redor de 100 kcal por mol para se formarem. Do outro lado, estão as **ligações fracas**, de natureza variada, que se formam com pequeno gasto energético e podem ser desfeitas por procedimentos suaves como aquecimento moderado e alteração da concentração iônica do meio. As principais ligações fracas são: as **pontes de hidrogênio**, as **ligações eletrostáticas** e as **interações hidrofóbicas**. As **pontes de hidrogênio** ocorrem devido ao uso em comum de um átomo de hidrogênio por radicais diferentes. No caso das proteínas, isso tem lugar entre o nitrogênio e a carbonila de ligações peptídicas diferentes (Fig. 3.6). As pontes de hidrogênio são também importantes na ligação entre as duas cadeias do DNA, ligação essa que ocorre devido a pontes que se estabelecem entre duas bases (Fig. 3.19). As **ligações eletrostáticas** são ligações que se formam quando um grupo ácido se prende a um básico. São exemplos a ligação entre aminoácidos básicos e ácidos, entre corantes ácidos (geralmente com grupos sulfônicos: SO_3^-) e proteínas básicas dos tecidos ou, então, entre as glicosaminoglicanas (que contêm grupamentos sulfato: SO_4^{2-}) e proteínas básicas. As **interações hidrofóbicas** ocorrem entre moléculas apolares que são comprimidas umas contra as outras devido à repulsão que sofrem da água que as envolve. Não é, portanto, propriamente uma **ligação**, como ocorre nas pontes de hidrogênio ou ligação eletrostática, sendo mais adequadamente definida como uma **interação**. O exemplo mais importante de interação hidrofóbica em biologia tem lugar nas membranas da célula (Cap. 5), onde as duas camadas de lipídios associam-se principalmente devido a esse tipo de interação.

A importância biológica dessas interações e ligações de baixa energia reside no fato de que elas permitem à célula alterar, montar e desmontar estruturas supramoleculares, como, por exemplo, os microtúbulos e microfilamentos, aumentando assim enormemente a sua versatilidade e eficiência funcional, sem grande gasto energético. Se as interações das macromoléculas fossem realizadas apenas com ligações fortes, a estrutura celular seria estável, e as modificações dessa estrutura implicariam um gasto de energia tão alto que a atividade celular seria impossível.

Proteínas são polímeros de aminoácidos

As proteínas são macromoléculas contendo um número variável de L-aminoácidos, unidos por ligações peptídicas (Figs. 3.2 e 3.3). São, portanto, polímeros de aminoácidos. As cadeias assim constituídas chamam-se cadeias polipeptídicas e, ao atingirem certa dimensão, recebem o nome de proteína. É comum considerar proteínas os polipeptídeos com peso molecular a partir de 6.000 daltons (6 kDa).

Embora existam mais de 150 aminoácidos, só 20 são encontrados nas proteínas (Fig. 3.4). Esses 20 aminoácidos celulares são todos de estrutura L, o que reforça a hipótese, apresentada no

Tabela 3.1 Energia despendida para romper algumas ligações moleculares de interesse biológico

Tipo de ligação		Energia (kcal/mol)
Ligações covalentes (fortes)	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_3$	88 (simples)
	$\text{C}=\text{O}$	170 (dupla)
	$\text{N}\equiv\text{N}$	226 (tripla)
	- ponte de H	5
Ligações não-covalentes (fracas)	- ligação iônica	5
	- interação hidrofóbica	1-3

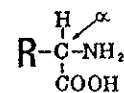


Fig. 3.2 Fórmula geral dos alfa-aminoácidos.

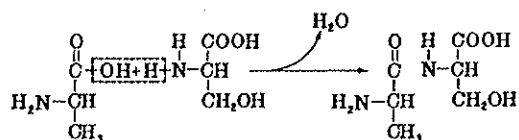


Fig. 3.3 Formação da ligação peptídica, indicada em sombreado, pela união de dois aminoácidos e formação de uma molécula de água.

Cap. 1, segundo a qual todas as células hoje existentes derivam de uma célula ancestral única. A célula ancestral teria aproveitado os L-aminoácidos, sendo a capacidade de utilizá-los transmitida a todas as células descendentes.

Os aminoácidos encontrados nas proteínas possuem em comum a presença de um grupo NH_2 (amino) e um grupo COOH (carboxila) ligados ao carbono alfa da molécula (Figs. 3.2 e 3.3). Fazem exceção a prolina e a hidroxiprolina, que contêm o gru-

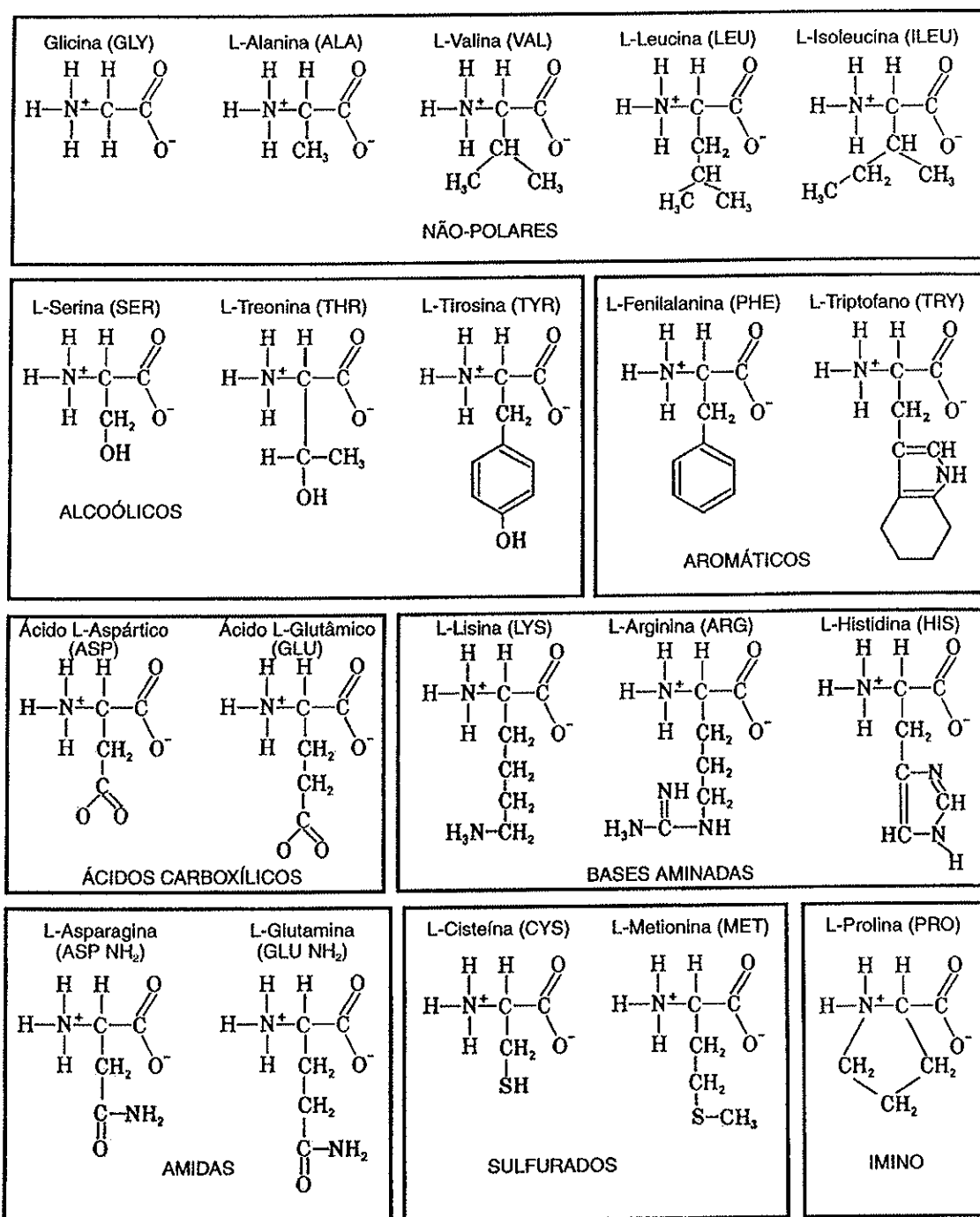


Fig. 3.4 Moléculas dos 20 aminoácidos encontrados nas proteínas. As cadeias laterais, responsáveis por certas propriedades químicas dos aminoácidos, estão indicadas pelo sombreado.

po NH (imino) em substituição ao grupo NH_2 . Na realidade, a prolina e a hidroxiprolina são iminoácidos (Fig. 3.4), mas se incluem entre os aminoácidos por apresentarem propriedades semelhantes a estes.

As proteínas podem ser classificadas em duas categorias. As **proteínas simples**, cujas moléculas são formadas exclusivamente por aminoácidos, e as **proteínas conjugadas**, que se caracterizam pela presença, em suas moléculas, de uma parte não-protéica denominada **grupo prostético**. Entre as proteínas conjugadas podem ser mencionados os seguintes exemplos: **nucleoproteínas**, com grupo prostético constituído por ácidos nucleicos; **glicoproteínas**, que contêm polissacarídeos; **lipoproteínas**, que contêm lipídios; **fosfoproteínas**, cujo grupo prostético contém fósforo; **hemoproteínas** (catalases, peroxidases e citocromos) contendo o grupo heme, que é uma ferroporfirina; **flavoproteínas** contendo riboflavina no grupo prostético; e, finalmente, **metalo-proteínas**, nas quais o grupo prostético ou é um metal (insulina e anidrase carbônica, que contêm zinco), ou é um composto inorgânico contendo metal, como, por exemplo, a ferritina, cujo grupo prostético é o $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Os grupamentos NH_2 e COOH são ionizáveis, o que confere carga elétrica às proteínas e condiciona a sua migração em um campo elétrico. Conforme haja predominância de grupos NH_2 ou COOH , as proteínas são básicas ou ácidas, respectivamente. Por exemplo, as histonas, ricas em lisina e arginina (aminoácidos com dois grupos NH_2 por molécula), são eletricamente positivas em pH 7, portanto, básicas e, por isso, combinam-se com os grupos fosfato do ácido desoxirribonucleico (DNA) para formar nucleoproteínas.

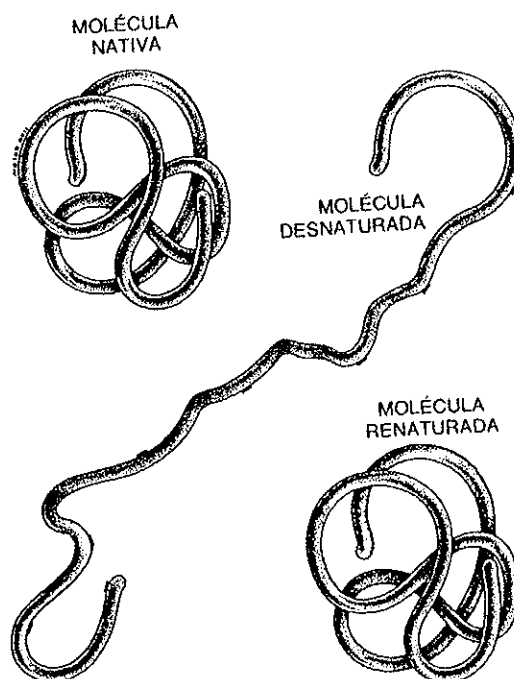


Fig. 3.5 Em cima, à esquerda, aparece uma molécula proteica globosa, em sua configuração nativa (forma da molécula nas condições naturais dentro da célula). No centro, a mesma molécula, porém desnaturada. Como a desnaturação é frequentemente reversível, a molécula pode voltar à sua forma inicial, como mostra a figura embaixo, à direita. As pequenas faixas negras representam os radicais que se unem para estabelecer a configuração nativa da proteína.

A sequência de aminoácidos influi na forma tridimensional e no papel biológico das moléculas protéicas

A forma tridimensional da molécula de uma proteína está relacionada com a sequência de aminoácidos e com o número de cadeias polipeptídicas que constituem sua molécula. Há proteínas cuja molécula tem apenas uma cadeia polipeptídica, enquanto outras possuem múltiplas cadeias, em geral umas diferentes das outras. Por exemplo, a hemoglobina é constituída por duas cadeias alfa (iguais entre si) e duas cadeias beta (também iguais entre si).

Do ponto de vista biológico, o conhecimento da forma tridimensional das moléculas protéicas em estado nativo (configuração nativa) é muito importante, pois é assim que, dentro da célula, as moléculas mostram atividade e interagem umas com as outras. Chama-se **configuração nativa** a forma tridimensional que uma molécula apresenta nas condições de pH e temperatura existentes nos organismos vivos (Fig. 3.5).

A estrutura das moléculas protéicas é mantida pelas seguintes forças de estabilização:

- 1) **ligação peptídica**, já explicada, que é resultante de ligação covalente;
- 2) **interação hidrofóbica**;
- 3) **pontes de hidrogênio**;
- 4) **ligações dissulfeto** ou S-S, que são ligações covalentes entre moléculas do aminoácido cisteína.

O número e a sequência dos resíduos aminoácidos em uma cadeia polipeptídica determinam a **estrutura primária** da proteí-

na. A estrutura primária é mantida por ligações peptídicas, mas, se estas fossem as únicas ligações existentes, as moléculas das proteínas seriam dobradas ao acaso, irregularmente.

Entretanto, o estudo das propriedades das moléculas protéicas em estado nativo revela que elas são constituídas por cadeias polipeptídicas dobradas de forma bastante regular e constante para cada tipo de proteína.

As cadeias se doam e se enrolam de modo complexo, para constituírem um arranjo espacial definido e típico da proteína conhecido como sua **estrutura secundária**. Uma estrutura secundária muito frequente entre as proteínas globulares que formam a maioria das proteínas da célula é a **alfa-hélice** (Fig. 3.6). Essa configuração se deve à formação de pontes de hidrogênio entre aminoácidos de uma mesma cadeia, a qual adquire a forma de saca-rolha ou hélice.

A cadeia contendo a estrutura secundária dobra-se novamente sobre si mesma, formando estruturas globosas ou alongadas, adquirindo assim uma **estrutura terciária** (Fig. 3.7).

Muitas proteínas têm moléculas constituídas por várias cadeias peptídicas, que podem ser iguais ou diferentes. Essas cadeias chamam-se **subunidades** ou **monômeros**. O modo específico de as subunidades se juntarem para formar a molécula proteica tem o nome de **estrutura quaternária** da proteína (Fig. 3.8). Essa estrutura é mantida graças à cooperação de numerosas ligações químicas fracas, como as pontes de hidrogênio. Através da organização protéica quaternária, formam-se diversas estruturas de grande importância biológica, como os microtúbulos, microfilamentos, capsômeros dos vírus e os complexos enzimáticos que serão descritos adiante, neste mesmo capítulo. Também as

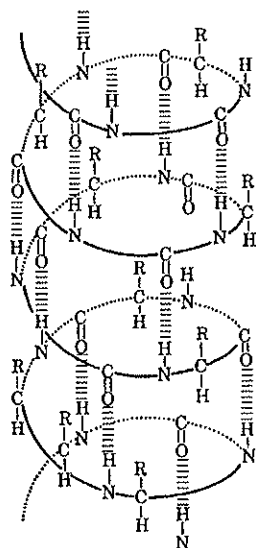


Fig. 3.6 Estrutura secundária (alfa-hélice) de uma proteína. As pontes de hidrogênio entre os aminoácidos estão representadas por traços paralelos.

fibrilas colágenas (Fig. 3.9) encontradas no espaço extracelular do tecido conjuntivo são constituídas pela agregação de cadeias polipeptídicas de tropocolágeno.

Diz-se que uma proteína é **globular** quando a sua molécula tem uma relação comprimento-largura menor do que 10:1. A grande maioria das proteínas das células é globular, como a hemoglobina, a mioglobina, a hemocianina, as proteínas com atividade enzimática e as proteínas das membranas celulares.

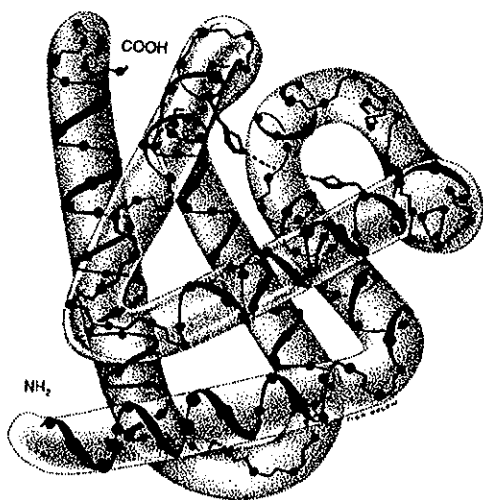


Fig. 3.7 Desenho esquematizando as estruturas primária, secundária e terciária de uma proteína. Na fita negra estão representados os resíduos aminoácidos (estrutura primária) e a hélice formada por eles (estrutura secundária). As dobras da molécula, demonstradas por seu contorno externo, em pontilhado fino, constituem a estrutura terciária.

Quando a relação comprimento-largura é maior que 10:1, a proteína é dita **fibrosa**.

Dentre as proteínas fibrosas intracelulares, a **queratina** é a mais bem estudada (Fig. 3.10). A proteína mais abundante no corpo dos mamíferos é o **colágeno**, proteína fibrosa extracelular que constitui as fibrilas colágenas já mencionadas.

Moléculas chaperones auxiliam a formação das complexas moléculas protéicas e a destruição das proteínas defeituosas

Nos diversos locais do ambiente intracelular, muitas proteínas estão se formando simultaneamente, o que dificulta a estruturação dos complexos protéicos. Essa dificuldade, devida ao aglomerado de moléculas nascentes no ambiente intracelular, é contornada pelas **moléculas chaperones**, que são proteínas cuja função principal é se unirem às cadeias polipeptídicas nascentes, até que elas se liguem a outras cadeias polipeptídicas, para formar corretamente as complexas moléculas finais. Sem o trabalho das chaperones, formar-se-iam muitos agregados protéicos sem atividade funcional, pela união, ao acaso, das numerosas cadeias polipeptídicas que são continuamente sintetizadas na célula.

As moléculas chaperones não só minimizam a agregação errada das cadeias polipeptídicas, como desfazem as agregações defeituosas e promovem a eliminação, por hidrólise, das moléculas protéicas incorretamente formadas. Muitas tarefas das moléculas chaperones são realizadas com gasto de energia fornecida por ATP.

As chaperones desempenham ainda outras funções, como impedir o enovelamento das moléculas protéicas sintetizadas no citossol porém destinadas às mitocôndrias. Os mecanismos de transferência de proteínas para dentro das mitocôndrias só funcionam para transportar moléculas distendidas e nunca moléculas já dobradas em sua configuração final. Depois da penetração da proteína mitocondrial distendida pela chaperone respectiva, as duas se separam e a proteína mitocondrial assume sua forma retorcida final, ativa. Em outros locais, as chaperones desempenham ainda outras funções. Nas cisternas do retículo endoplasmático existe uma chaperone que auxilia a orientação do dobramento de moléculas protéicas para que elas assumam a conformação tridimensional correta.

As principais chaperones são denominadas hsp60 e hsp70. A abreviatura provem de *heat shock protein*, porque elas aumentam de quantidade quando as células são colocadas em temperatura mais elevada, e o número indica o peso molecular expresso em quilodáltons (kDa).

Através das enzimas, os genes controlam o metabolismo celular

As enzimas são moléculas protéicas dotadas da propriedade de acelerar intensamente determinadas reações químicas, tanto no sentido da síntese como no da degradação de moléculas. São elas as principais responsáveis pela eficiência da maquinaria química intracelular. Graças às enzimas, as células executam, em milésimos de segundo, a síntese de moléculas que, *in vitro*, sem enzimas, necessitariam de semanas de trabalho para serem

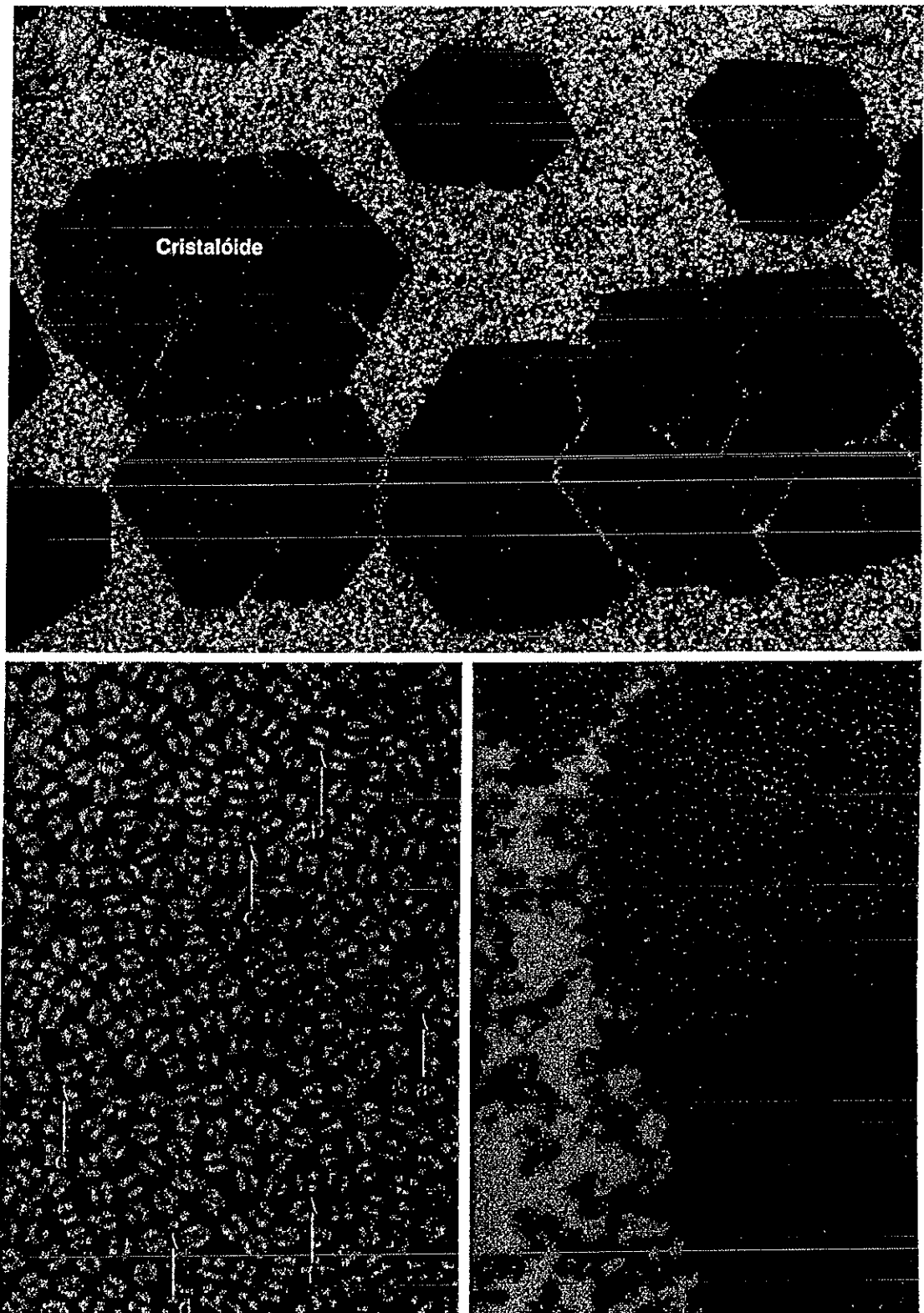


Fig. 3.8 Estas eletromicrografias mostram um exemplo da estrutura quaternária de uma proteína, a hemocianina, presente no sangue de *Limulus polyphenus*. Em cima, corte da célula produtora de hemocianina, cujas moléculas se agrupam formando cristalóides (43.000 X). Embaixo, à direita, com maior aumento (80.000 X), as moléculas componentes dos cristalóides (hemocianina) são visíveis. À esquerda, com aumento ainda maior (210.000 X), observa-se claramente que a molécula de hemocianina é um tetrâmero que aparece com aspectos diferentes conforme a posição em que é observado (a e b). Sua subunidade ou monômero está indicada em c. Observar ainda dímeros (d) e os tetrâmeros com seus quatro monômeros globulares bem visíveis (e e f). (Micrografias de W.H. Fahrenbach, *Journal of Cell Biology*, 44:445, 1970. Reprodução autorizada.)

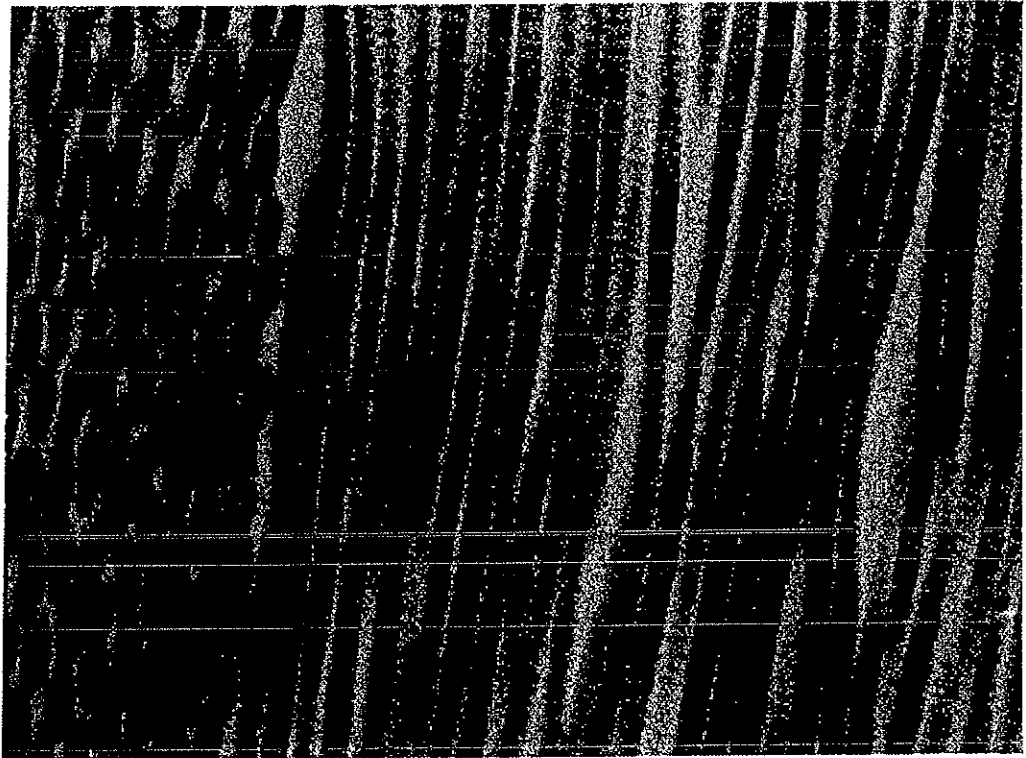


Fig. 3.9 Eletromicrografia do tecido conjuntivo da pele humana. As estruturas alongadas são fibrilas colágenas constituídas pela agregação de moléculas de tropocolágeno (proteína fibrosa). As fibrilas são estruturas protéicas quaternárias cujo monômero é o tropocolágeno. À esquerda, cortes oblíquos dessas fibrilas. Aumento: 33.000 \times .

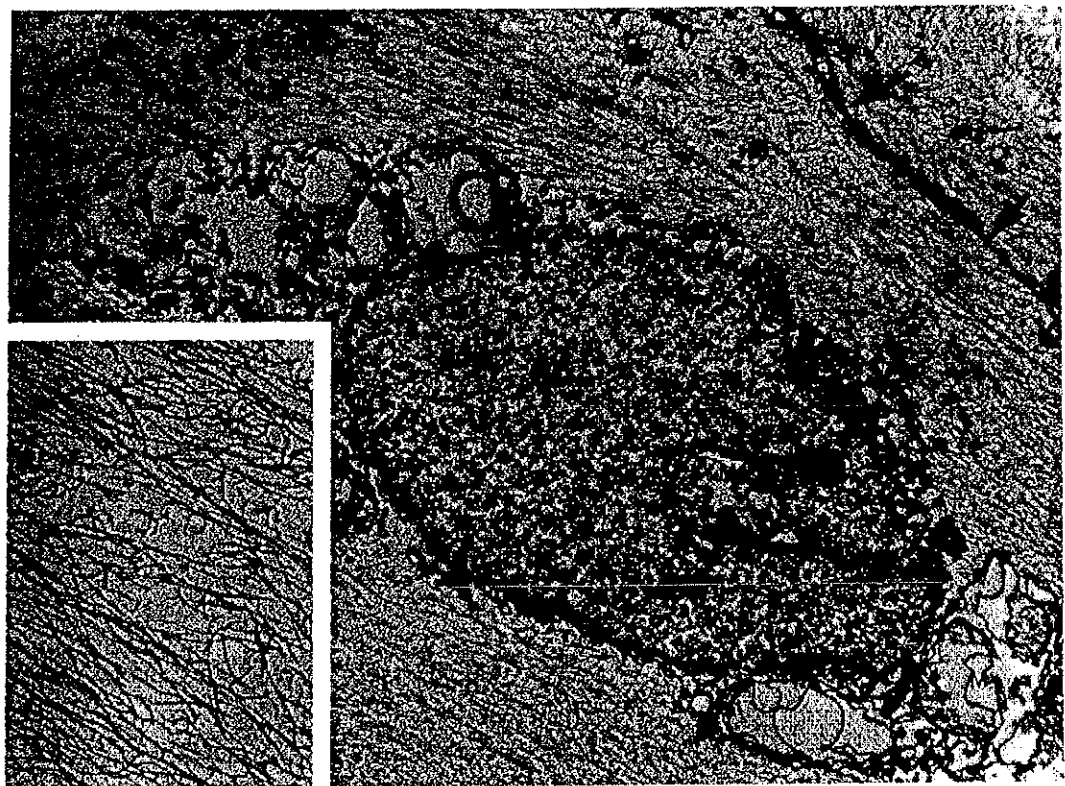


Fig. 3.10 Eletromicrografia de célula epidérmica de peixe. As setas indicam o limite entre duas células. Observar os numerosos filamentos de queratina (proteína fibrosa); *M*, mitocôndria; *MI*, mitocôndria em dobra (invaginação) do envoltório nuclear. Aumento: 10.000 \times . A micrografia menor, à esquerda, mostra os filamentos de queratina aumentados 200.000 \times .

sintetizadas. Além da rapidez, as sínteses enzimáticas apresentam alto rendimento, isto é, no final da reação gera-se apenas o produto desejado ou alguns produtos, mas todos úteis às células. Ao contrário, nas sínteses de laboratório, não-enzimáticas, formam-se, além das moléculas desejadas, numerosos subprodutos, originando-se assim uma mistura da qual a molécula desejada deve ser separada. Se isso acontecesse no meio intracelular, haveria uma concentração de produtos indesejáveis que perturbaria o metabolismo.

Sendo catalisadores tão eficientes, as enzimas têm sido usadas para síntese *in vitro*, tanto no laboratório experimental como na produção industrial.

As enzimas são proteínas e, como tais, produzidas sob o controle do DNA. Elas são os efetores da informação genética contida no DNA, e é através delas que o DNA comanda todo o metabolismo celular. Embora praticamente todas as moléculas enzimáticas sejam proteínas, há alguns RNAs, denominados ribozimas, que possuem atividade enzimática, constituindo uma exceção à regra geral.

Ação enzimática. O composto que sofre a ação de uma enzima chama-se **substrato**. A molécula da enzima possui um ou mais **centros ativos**, aos quais o substrato se combina para que seja exercida a ação enzimática. A forma tridimensional da enzima é importante para a sua atividade, pois os centros ativos são regiões cuja conformação tridimensional é complementar da molécula do substrato. Essa estereocomplementaridade é essencial para que se verifique o encaixe tridimensional preciso entre a enzima e seus substratos (Fig. 3.11); é através desse encaixe que a enzima reconhece e se prende com maior ou menor intensidade (afinidade) a seus substratos.

A especificidade das enzimas é muito variável. Algumas atuam exclusivamente sobre um tipo de molécula, não atacando sequer seu estereoisômero. Por exemplo, a desidrogenase láctica é específica para o L-lactato, e a D-aminoácido-oxidase só ataca os D-aminoácidos. Por outro lado, há enzimas que atuam sobre vários compostos com alguma característica estrutural comum. É o caso, por exemplo, das fosfatases, que hidrolisam diversos ésteres do ácido fosfórico.

Para exercerem sua atividade, muitas enzimas necessitam de **co-fatores**, que podem ser um íon metálico ou uma molécula. Quando o co-fator é uma molécula, recebe o nome de **coenzima**. Ao contrário da própria enzima, que, sendo proteína, é desnaturada e inativada por temperaturas muito elevadas, em geral as coenzimas são termooestáveis.

Alguns co-fatores estão ligados de modo permanente e íntimo à molécula da enzima, enquanto outros a ela se unem temporariamente, durante a ação enzimática. O complexo formado pela enzima com o co-fator, independentemente do grau de união química entre eles, chama-se **holoenzima**. Removendo-se o co-fator, resta a parte protéica da enzima, que é então inativa e se chama **apoenzima**.

Quando o co-fator está fortemente ligado à molécula da apoenzima, ele constitui um grupo prostético e a enzima deve ser considerada uma proteína conjugada.

A parte ativa de muitas coenzimas contém vitaminas do grupo B, como riboflavina, tiamina, ácido pantotênico e nicotinamida.

Nomenclatura. Muitas enzimas são designadas pelo nome do substrato sobre o qual atuam mais o sufixo **-ase**. Por exemplo, o **ácido ribonucléico** (substrato) é hidrolisado por uma enzima que recebeu o nome de **ribonuclease**. Outras enzimas, porém — inclusive algumas dentre as mais bem-estudadas —, são co-

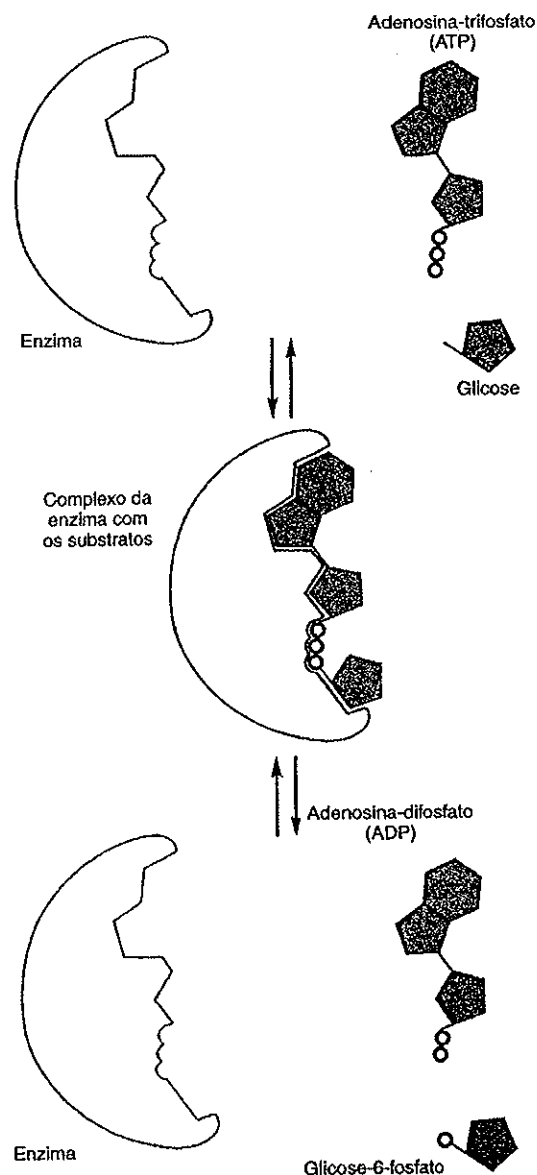


Fig. 3.11 Combinação reversível entre os substratos e o centro ativo da enzima. Demonstra-se também a ação enzimática ($\text{ATP} + \text{glicose} \rightarrow \text{ADP} + \text{glicose-6-fosfato}$). Esta figura ilustra a importância da estrutura tridimensional de uma proteína (enzima) para sua atividade biológica. É necessário que o substrato se encaixe na molécula enzimática para que a enzima atue.

nhcidas por nomes que não seguem essa regra. São exemplos a **pepsina** e a **tripsina**, que hidrolisam proteínas.

A Comissão de Enzima da União Internacional de Bioquímica adotou uma classificação das enzimas em seis categorias principais (Tabela 3.2), cada uma com subdivisões, e estabeleceu normas para a designação mais precisa e informativa de cada enzima. Por exemplo, pela nomenclatura da Comissão, a enzima em geral chamada hexoquinase e que catalisa a reação $\text{ATP} + \text{glicose} \rightarrow \text{glicose-6-fosfato} + \text{ADP}$ deve ser chamada **ATP: hexose-fosfotransferase**. Esta última denominação indica mais precisamente a ação da enzima, que é transferir um grupo fosfato do ATP para uma hexose (Fig. 3.11). Todavia, a nomenclatura internacional é pouco usada na prática, porque as enzimas