

3

Membranas Biológicas

3.1

Os limites das células

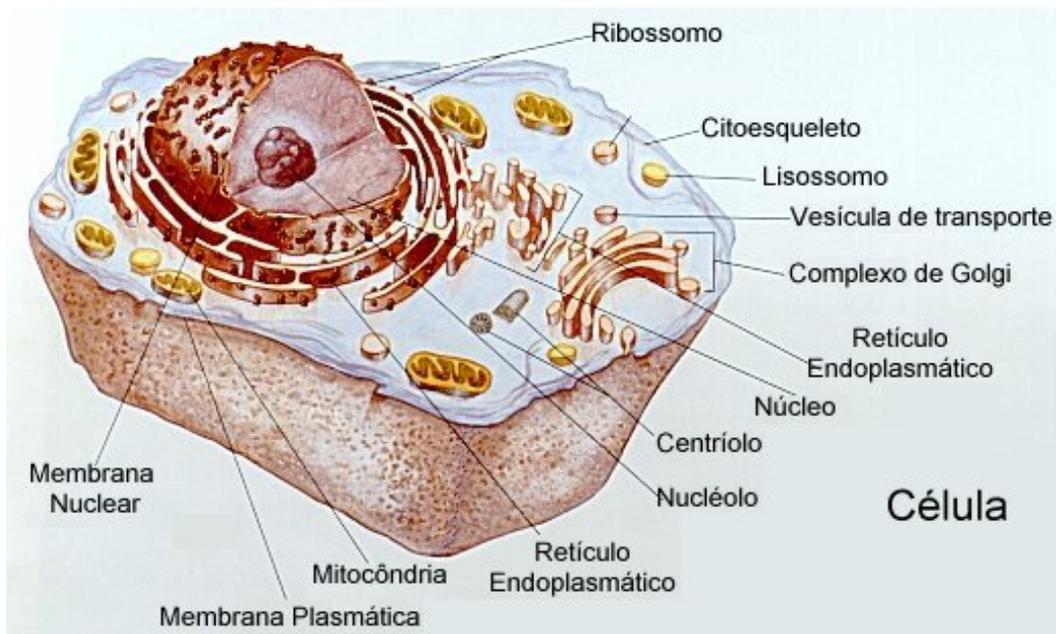


Figura. 3.1 – Estrutura de uma célula animal. (modificada de *Biologia Molecular da Célula*, 4ª edição, Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Artmed editora, 2004.)

Os limites das células são formados por membranas celulares biológicas, as barreiras que definem o interior e o exterior de uma célula (Berg et al., 2004, Johnson et al., 2004). Estas barreiras impedem que as moléculas geradas dentro da célula vazem para fora e que moléculas indesejadas se difundam para dentro. A membrana plasmática engloba a célula e mantém as diferenças essenciais entre o citosol e o ambiente extracelular. A espessura da maioria das membranas está compreendida entre 6 nm e 10 nm. No interior de células eucarióticas, as membranas do retículo endoplasmático, o aparelho de Golgi, a mitocôndria e outras organelas limitadas por membranas mantêm as diferenças características entre os conteúdos de cada organela e os do citosol.

A especialização funcional no decurso da evolução esteve intimamente ligada à formação dos compartimentos intracelulares. Sistemas específicos evoluíram para permitir o endereçamento de proteínas selecionadas para dentro de

determinadas membranas internas, ou através delas e, daí, para organelas específicas. Membranas internas e externas possuem características essenciais em comum.

As membranas são tão diversas em estrutura quanto em função, servem para inúmeras funções indispensáveis à vida. Apesar das suas funções diferenciadas, todas as membranas biológicas têm uma estrutura geral comum: cada uma é um filme muito fino de moléculas lipídicas e protéicas mantidas unidas principalmente por interações não covalentes. As membranas são estruturas dinâmicas nas quais proteínas nadam em um mar de lipídeos. Os componentes lipídicos da membrana formam uma barreira de permeabilidade. As proteínas componentes agem como um sistema de bombas e canais que dotam à membrana a permeabilidade seletiva. As moléculas protéicas que atravessam a bicamada lipídica servem de mediadores para praticamente todas as outras funções da membrana. São necessárias muitas proteínas de membrana diferentes para que uma célula possa funcionar e interagir com o ambiente que a envolve. De fato, estima-se que aproximadamente 30% das proteínas que são codificadas no genoma de uma célula animal sejam proteínas de membrana.

3.2

A Bicamada Lipídica

Os lipídeos são biomoléculas insolúveis em água, muito solúveis em solventes orgânicos, tal como o clorofórmio. Eles têm várias funções biológicas: servem como alimento energético, como armazenamento altamente concentrado de energia, como moléculas sinalizadoras e como componentes estruturais de membranas. Notoriamente, dentre as propriedades mais significativas dos lipídeos, estão suas propriedades hidrófobas. Estas propriedades são devidas principalmente ao seu componente principal, os ácidos graxos. Ácidos graxos são cadeias hidrocarbonadas, com vários comprimentos e grau de insaturação, que terminam em carboxilas, grupamentos ácidos. Em sistemas biológicos, no entanto, os ácidos graxos contêm um número par de átomos de carbono, tipicamente entre 14 e 24. Aqueles com 16 e 18 carbonos são os mais comuns.

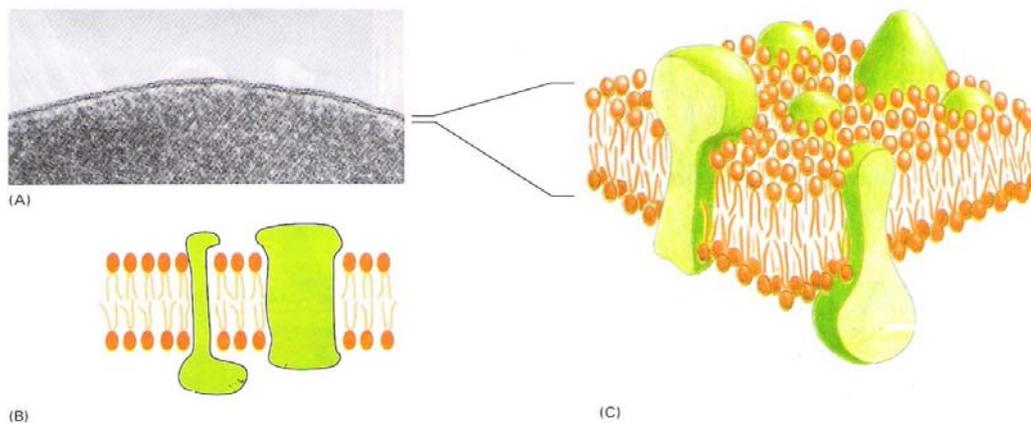


Figura 3.2 – Três visões de uma membrana celular. (A) Uma micrografia eletrônica da membrana plasmática de uma célula vermelha do sangue vista numa seção transversal (B e C). Visões bi e tridimensionais da membrana celular. (modificada de *Biologia Molecular da Célula*, 4ª edição, Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Artmed editora, 2004)

Os fosfolípidos são abundantes em todas as membranas biológicas. Uma molécula de um fosfolípido é feita de quatro tipos de componentes: ácidos graxos, uma estrutura à qual se prendem estes ácidos, um fosfato e um álcool unido ao fosfato. As cadeias dos ácidos graxos fornecem uma barreira hidrófoba, ao passo que o restante da molécula tem propriedades hidrófilas que permitem a interação com o meio aquoso. Os fosfolípidos derivados do glicerol são chamados de fosfoglicerídeos. Um fosfoglicerídeo é constituído de um glicerol, ao qual se prendem duas cadeias de ácidos graxos e um álcool fosforilado. Os fosfolípidos encontrados nas membranas celulares são modificados no grupo fosfato.

A bicamada lipídica ficou estabelecida definitivamente como a base universal da estrutura das membranas celulares. É facilmente visível por meio de microscopia eletrônica, apesar de que técnicas especializadas, como difração de raios X e microscopia eletrônica de criofatura, sejam necessárias para revelar os detalhes da sua organização. A estrutura de bicamada pode ser atribuída às propriedades especiais das moléculas lipídicas, que fazem com que elas se agrupem espontaneamente em camadas duplas, mesmo sob condições artificiais simples.

A formação das membranas é uma consequência da natureza anfipática – anfílica – das moléculas, ou seja, moléculas que contêm tanto uma porção hidrófila quanto uma hidrófoba. Os fosfolípidos são comumente ilustrados

contendo duas partes, um corpo hidrofílico e uma cauda hidrofóbica. Os fosfolípidos geralmente agrupam-se em três formas distintas em solução. As lâminas de bicamadas, as micelas – vesículas com um interior hidrofóbico – e os lipossomos – vesículas com interior aquoso (Fig. 3.3).

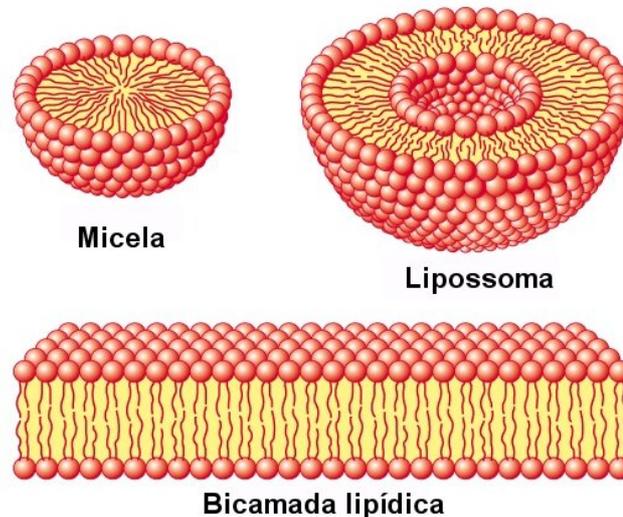


Figura 3. 3 – Representação das secções da estrutura de micela, lipossoma e bicamada de fosfolípidos. (<http://bioweb.wku.edu/courses/biol22000/2Bonds/images/F02-20.JPG>)

A estrutura favorecida para a maioria dos fosfolípidos e glicolípidos em meios aquosos é uma estrutura de bicamada, em vez de uma micela. O motivo é que as cadeias de ácidos graxos de um fosfolípido ou glicolípido são muito volumosas para se adaptarem no interior de uma micela. Em contraste, os sais de ácidos graxos - tais como o palmitato de sódio, um constituinte do sabão - formam micelas prontamente. A formação de bicamadas em vez de micelas é de importância biológica crítica. Uma micela é uma estrutura limitada, geralmente com menos de 20 nm de diâmetro. Por outro lado, uma lâmina bimolecular pode ter dimensões macroscópicas, de até um milímetro – 10^6 nm. Fosfolípidos e moléculas similares são constituintes importantes de membranas, porque formam prontamente extensas lâminas bimoleculares. A formação de bicamadas lipídicas é um processo de automontagem. Em outras palavras, a estrutura do agregado é intrinsecamente dependente da estrutura das moléculas lipídicas constituintes.

O crescimento de bicamadas lipídicas a partir de fosfolípidos é um processo rápido e espontâneo na água. As interações hidrófobas são as principais forças diretoras da formação de bicamadas lipídicas. Além disso, a força atrativa de van der Waals entre as caudas hidrocarbonadas favorecem o empacotamento

das caudas. Finalmente, há as atrações eletrostáticas e as pontes de hidrogênio entre as cabeças polares e moléculas de água. Deste modo, as bicamadas lipídicas são estabilizadas por todo o conjunto das forças que participam das interações moleculares dos sistemas biológicos. Como as bicamadas lipídicas são mantidas juntas por muitas interações não covalentes de reforço – predominantemente hidrófobas, elas são estruturas cooperativas. Estas interações hidrófobas têm três conseqüências biológicas significativas: (1) as bicamadas lipídicas têm uma tendência inerente a serem extensas; (2) as bicamadas lipídicas tendem a fechar-se sobre si mesmas para que não haja bordas com cadeias hidrocarbonadas expostas, o que resulta na formação de compartimentos e (3) as bicamadas lipídicas são auto-selantes porque um orifício em uma bicamada é energeticamente desfavorável.

3.3

A mobilidade dos lipídeos na membrana

As membranas plasmáticas não são estruturas rígidas, estáticas. Pelo contrário, os lipídeos e muitas proteínas de membrana estão em constante movimento lateral, em um processo denominado de difusão lateral, proporcionando uma fluidez à membrana. O coeficiente de difusão dos lipídeos em várias membranas é em torno de $1 \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$. Esta velocidade significa que uma molécula lipídica pode se locomover de uma extremidade de uma bactéria para outra em um segundo. A ordem de grandeza do coeficiente de difusão observado indica que a viscosidade da membrana é cerca de cem vezes maior do que a da água, bem próxima do azeite de oliveira.

Por outro lado, as proteínas variam muito em sua mobilidade lateral. Algumas proteínas são quase tão móveis quanto os lipídeos, ao passo que outras são virtualmente imóveis. Os lipídios também podem girar em torno de seu próprio eixo, apresentar movimentos de flexão por causa das cadeias de hidrocarbonetos e migrar de uma monocamada para outra. Embora a difusão lateral possa ser rápida, a rotação espontânea de lipídeos de uma face de uma membrana para a outra é um processo bem lento. O deslocamento de uma molécula de uma superfície da membrana para a outra é chamado de difusão transversa, ou flip-flop. Uma molécula de fosfolípídeo leva cerca de 10^9 mais

tempo para fazer flip-flop através de uma membrana do que para se difundir por uma distância de 50 Å na direção lateral. As barreiras de energia livre para difusão transversa de moléculas de proteínas são ainda maiores do que para lipídeos, porque as proteínas têm regiões polares mais amplas. De fato, não foi observada a difusão transversa de uma molécula de proteína.

O colesterol, abundante na estrutura de membranas de células animais, é um lipídeo com uma estrutura bem diferente da dos fosfolipídeos. É um lipídeo com núcleo esteróide, constituído de quatro anéis hidrocarbonados ligados. Uma cauda hidrocarbonada está ligada em uma extremidade do esteróide, e uma hidroxila na outra. Nas membranas, a molécula é orientada paralela às cadeias de ácidos graxos dos fosfolipídeos, e a hidroxila interage com as cabeças de fosfolipídeos próximas.

3.4

O Modelo do “Mosaico Fluido”

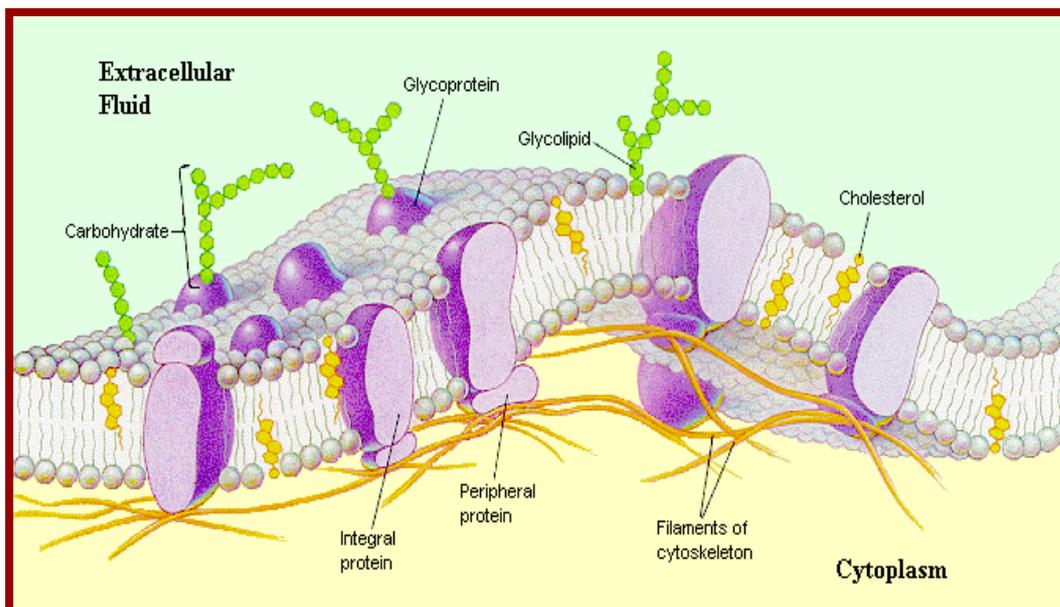


Figura 3. 4 – Modelo em mosaico fluido (Singer, S. J.; Nicolson, G. L., Science 175: 723, 1972.) <http://lamp.tu-graz.ac.at/~hadley/nanoscience/week4/membrane.jpg>.

Com base nas propriedades dinâmicas das proteínas nas membranas, S. Jonathan Singer e Garth Nicolson propuseram, em 1972, o conceito de um modelo em mosaico fluido para a organização global das membranas biológicas (Fig. 3.4). A idéia do modelo é organizar as membranas como soluções bidimensionais de

lipídeos orientados e de proteínas globulares. A bicamada lipídica tem um duplo papel: é um solvente para proteínas integrantes de membrana e também é uma barreira de solubilidade. As proteínas de membrana são livres para difundirem lateralmente na matriz lipídica, a menos que sejam restritas por interações especiais.

As proteínas de membranas podem ser classificadas como sendo periféricas ou integrantes, dependendo da dissociabilidade da proteína. As proteínas integrantes de membrana interagem amplamente com as cadeias lipídicas. A maior parte das proteínas integrantes de membrana conhecidas atravessa a bicamada lipídica. As proteínas periféricas de membranas ligam-se primariamente às cabeças polares dos lipídeos, por interações eletrostáticas e pontes de hidrogênio. Estas interações polares podem ser rompidas pela adição de sais ou por alteração do pH.

Não obstante a variedades de tipos de membranas, algumas características comuns das membranas podem ser enunciadas:

(1) As membranas são constituídas principalmente de lipídeos e proteínas. Sua proporção de massas vai de 1:4 a 4:1. As membranas também contêm glicídeos que se ligam aos lipídeos e às proteínas;

(2) Os lipídeos de membranas são moléculas relativamente pequenas que tem tanto uma porção hidrófila quanto uma hidrófoba. Estes lipídeos formam espontaneamente bicamadas fechadas em meios aquosos. Estas bicamadas lipídicas são barreiras ao fluxo de moléculas polares;

(3) Proteínas específicas exercem funções distintas nas membranas. Elas funcionam como bombas, canais, receptores, transformadores de energia e enzimas. As proteínas de membrana são embutidas em bicamadas lipídicas, as quais criam ambientes adequados a sua ação;

(4) As membranas são montagens não covalentes. As moléculas de proteínas e de lipídeos que as constituem são mantidas juntas por muitas interações não covalentes, interações que são cooperativas;

(5) As membranas são assimétricas. As duas faces das membranas biológicas sempre diferem uma da outra;

(6) As membranas são estruturas fluidas. As moléculas lipídicas difundem-se rapidamente no plano da membrana, assim como as proteínas, a menos que sejam ancoradas por interações específicas. Em contraste, as moléculas de

lipídeos e proteínas não giram facilmente através da membrana. As membranas podem ser consideradas como soluções bidimensionais de proteínas e lipídeos orientados.

3.5

Bombas e Canais de Membrana

A bicamada lipídica das membranas biológicas é intrinsecamente permeável a íons e moléculas polares. Contudo, sua permeabilidade seletiva é conferida por duas classes de proteínas de membrana, as bombas e os canais. Abaixo temos uma ilustração da bomba de $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATPase.

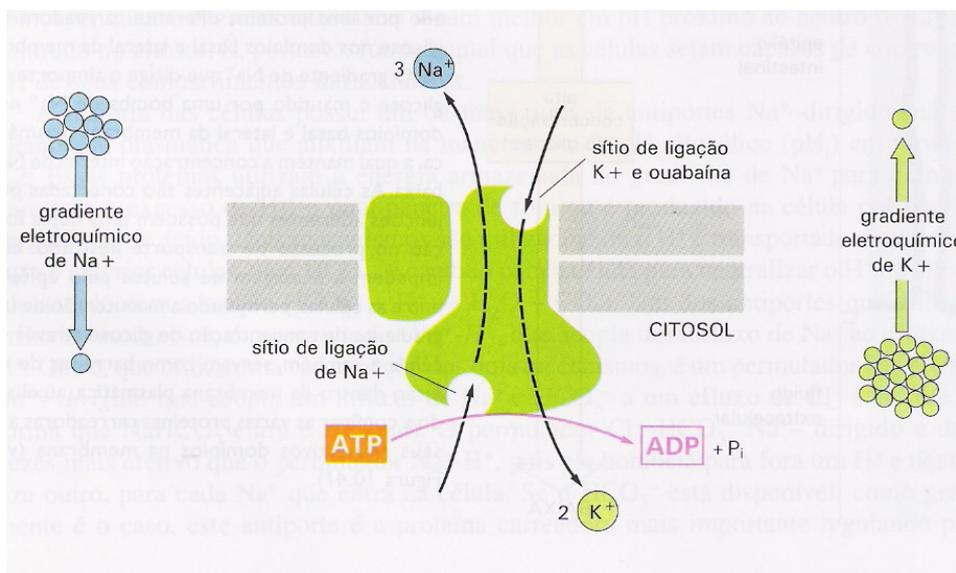


Figura 3. 5 – Bomba de $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATPase. (modificada de Biologia Molecular da Célula, 4ª edição, Alberts, B., Artmed editora, 2004.)

As bombas utilizam uma fonte de energia livre como o ATP ou a luz para impulsionar o transporte termodinamicamente desfavorável de íons ou moléculas. A ação das bombas é um exemplo de transporte ativo. A concentração de K^+ é tipicamente de 10 a 20 vezes maior no interior celular que no exterior, enquanto que com Na^+ ocorre o inverso. Estas diferenças de concentração são mantidas por uma bomba chamada de bomba de $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATPase ou, simplesmente, de bomba de Na^+ , que é encontrada na membrana plasmática de todas as células animais.

A bomba de $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATPase opera como um antiporte, bombeando Na^+ ativamente para fora da célula contra seu acentuado gradiente eletroquímico, e bombeando K^+ para o interior. Devido ao fato de a bomba hidrolisar ATP para

bombear Na^+ para o meio extracelular e K^+ para o meio intracelular, ela também é conhecida como uma bomba Na^+ , K^+ -ATPase. O gradiente de Na^+ produzido pela bomba dirige o transporte da maioria dos nutrientes para células animais e também apresenta um papel fundamental na regulação do pH citosólico.

A bomba também regula o volume celular pelos seus efeitos osmóticos, evitando assim o rompimento de muitas células animais. Ela controla a concentração de soluto dentro da célula regulando, portanto, a osmolaridade - tonicidade - que pode fazer uma célula murchar ou inchar.

Uma vez que a bomba Na^+ - K^+ move três íons carregados positivamente para o exterior celular para cada dois que bombeia para dentro, ela é eletrogênica. Esse efeito eletrogênico da bomba raramente contribui mais do que 10% para o potencial de membrana. Sendo os outros 90% dependentes da bomba Na^+ - K^+ apenas indiretamente.

Canais iônicos, por outro lado, permitem aos íons fluírem rapidamente pelas membranas num sentido termodinamicamente favorável. A ação dos canais ilustra o transporte passivo ou a difusão facilitada. As proteínas de canal formam poros hidrofílicos através das membranas no estado conformacional aberto. Os grupos polares parecem revestir a parede do poro, enquanto que as cadeias de aminoácidos hidrofóbicos interagem com a bicamada lipídica. O poro afunila para dimensões atômicas em uma região em que a seletividade iônica do canal é grandemente determinada.

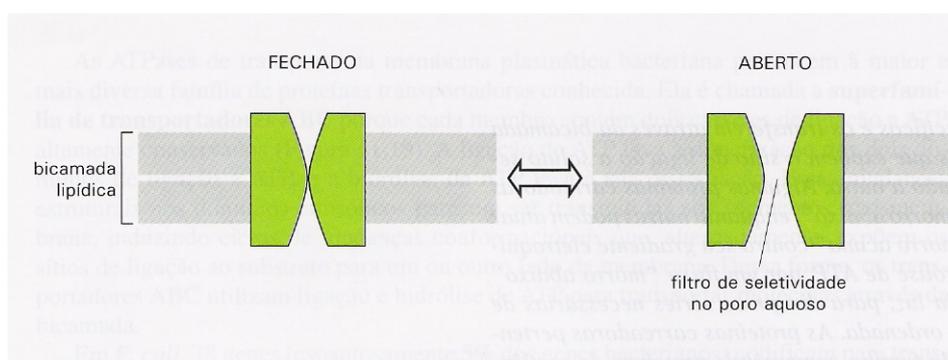


Figura 3.6 – Canal iônico típico fluando entre as conformações aberta e fechada. (modificada de *Biologia Molecular da Célula*, quarta edição, Alberts, B. et al., Artmed editora, 2004.)

Duas propriedades importantes distinguem canais iônicos de simples poros aquosos. Primeiro, eles mostram seletividade a íons, permitindo a passagem de alguns íons inorgânicos, mas não de outros. A segunda distinção importante entre

os canais iônicos e os poros aquosos simples é que os canais iônicos não estão abertos continuamente, eles são controlados, o que lhes permite abrir por um breve tempo e então fechar novamente.

Os dois fatores que determinam se uma molécula cruzará uma membrana são: a permeabilidade da molécula em uma dupla camada lipídica e a disponibilidade de uma fonte de energia. Determinadas moléculas podem passar pela membrana porque se dissolvem na bicamada lipídica. Tais moléculas são denominadas de lipófilas. Tais moléculas passarão através de uma membrana a favor de seu gradiente de concentração, num processo dito de difusão simples. De acordo com a segunda lei da termodinâmica, as moléculas movem-se espontaneamente de uma região de maior concentração para uma de menor concentração. Portanto, um aumento de entropia impulsiona o transporte através da membrana.

Na maioria dos casos um canal iônico abre em resposta a um estímulo específico. Os principais estímulos conhecidos por causar a abertura de canais iônicos são: mudança de voltagem através da membrana, nos canais controlados por voltagem, um estresse mecânico, nos canais controlados mecanicamente ou a ligação de um ligante, nos canais controlados por ligantes. O ligante pode ser tanto um mediador extracelular, especificamente um neurotransmissor, canais controlados por transmissor, ou um mediador intracelular, como um íon, canais controlados por íons, ou um nucleotídeo, canais controlados por nucleotídeo.