

EXERCÍCIOS SOBRE SINALIZAÇÃO CELULAR

1) Qual importância da “comunicação/sinalização celular” para a manutenção da homeostase no organismo?

Resposta: A sinalização celular faz parte de um complexo sistema de comunicação que governa e coordena as atividades e funções celulares. A habilidade que as células possuem de perceber e responder corretamente aos sinais do meio interno forma a base do desenvolvimento, da reparação de tecidos, da imunidade e de outras funções de homeostasia. Erros existentes no processamento de informação celular são responsáveis por doenças como a câncer, autoimunidade e diabetes. Se a célula não recebesse nenhum sinal ela morreria. Só para sobreviver ela precisa receber várias informações do meio externo sobre a disponibilidade de nutrientes, o número total de células do órgão de que ela faz parte etc. Para se dividir, além dos sinais de sobrevivência, também são necessários sinais de proliferação. Para que ela se diferencie em célula especializada, é preciso que os sinais de proliferação não estejam presentes (ou que a célula não os reconheça mais porque deixou de expor os receptores para eles) ao mesmo tempo em que sinais de diferenciação apareçam.

2) Diferenciar:

- **ligante e receptor:** ligantes são moléculas que constituem o sinal químico (moléculas sinalizadoras), enquanto receptores são moléculas que reconhecem e se ligam especificamente ao ligante. A ligação ligante/receptor dispara uma cascata de sinalização celular que amplifica o sinal e acaba por modificar o comportamento celular.

- **célula sinalizadora e célula-alvo:** células sinalizadoras são aquelas que produzem os ligantes ou moléculas-sinalizadoras, enquanto células-alvo são aquelas que possuem os receptores específicos para os ligantes.

3) Como moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas atuam na sinalização celular?

Resposta: Os ligantes hidrofílicos são reconhecidos por proteínas expostas na superfície da célula-alvo (receptoras transmembrânicas), enquanto um sinalizador que seja uma molécula pequena e hidrofóbica pode atravessar a bicamada lipídica e ser reconhecido no citoplasma, ou mesmo chegar ao núcleo da célula (são reconhecidos por proteínas receptoras internas). Assim, se a molécula sinalizadora não puder atravessar a membrana, o receptor deverá estar obrigatoriamente na membrana plasmática, exposto na superfície celular; se a molécula sinalizadora for pequena e/ou hidrofóbica o suficiente para atravessar a membrana, o receptor deve ser intracelular.

4) Como moléculas que não atravessam a membrana podem transmitir informação para o ambiente intracelular?

Resposta: Elas são reconhecidas por proteínas receptoras transmembrânicas expostas na superfície celular que, depois de receberem o ligante, disparam uma cascata de sinalização intracelular que amplifica o sinal e acaba por modificar o comportamento celular.

5) O que se entende por transdução de sinal? Qual é a sua importância para a célula?

Resposta: A transdução é a conversão de um tipo de sinal (estímulo, que frequentemente é um ligante que se liga ao receptor e o ativa) em outro sinal (mensageiro), o que permite que um sinal extracelular seja convertido em sinal intracelular, levando à ativação de uma cascata de sinalização interna que culmina com a amplificação do sinal inicial e ativação de diferentes respostas celulares (veja resposta da questão 1). Através da transdução de sinais as células reconhecem estímulos e transformam este reconhecimento em uma resposta, geralmente uma mudança na atividade celular. Cada célula recebe ao mesmo tempo vários sinais trazidos por diferentes moléculas sinalizadoras e ela os reconhece porque possui em sua superfície muitos receptores diferentes. Uma importante mudança de comportamento dessa célula pode depender da interação de vários sinais.

6) Diferencie primeiros e segundos mensageiros.

Resposta: **primeiros mensageiros:** são as moléculas sinalizadoras (ligantes) que atuam na superfície celular ativando os receptores da membrana, capazes de transduzir o estímulo em um sinal químico dentro da célula.

segundos mensageiros (mensageiros secundários): são os mediadores intracelulares, ou seja moléculas muito pequenas e presentes normalmente em baixíssima concentração, mas cujos níveis são alterados após ativação do receptor. A elevação súbita da concentração desse mensageiro é prontamente percebida pela célula, que gera uma resposta. São degradados ou recolhidos imediatamente após o pico de sinalização, possibilitando a célula perceber este próximo sinal.

7) O que é uma cascata de sinalização? Qual a vantagem da sinalização em cascata?

Resposta: quando uma mensagem chega e é reconhecida por um receptor, a ativação do receptor dispara no citosol uma ativação em série (em cascata) de sistemas celulares (segundos mensageiros) de resposta ao sinal. Assim, a cascata de sinalização é a sequência de eventos entre a ativação do receptor e a mudança de comportamento da célula, ou ainda, é a sequência de eventos extra e intracelulares que altera o funcionamento de uma células específica. A sinalização em cascata permite enorme amplificação do sinal inicial, que acaba por modificar o comportamento celular.

8) Dentro do assunto “comunicação/sinalização celular”, sabemos que há dois tipos básicos de comunicação: por contato direto e por moléculas de sinalização. Diferencie-os.

Resposta: por contato direto: as células precisam ter contato direto para que a comunicação ocorra. Para tal, possuem junções comunicantes (Gap) em suas membranas que fazem a conexão entre os seus citoplasmas. por moléculas: as células sinalizadoras produzem moléculas-sinalizadoras ou ligantes que irão atuar em células-alvo que possuem receptores para esses ligantes.

9) Diferencie as formas de comunicação por moléculas: autócrina, parácrina, endócrina, por neurotransmissor e neuroendócrina.

Resposta: autócrina: moléculas sinalizadoras produzidas por um tipo celular agem sobre células do mesmo tipo celular, atingindo também a própria célula que originou o sinal químico. A molécula sinalizadora tem vida curta.

parácrina: moléculas sinalizadoras produzidas por um tipo celular agem sobre células vizinhas, sendo retidas do local de produção ou inativadas logo após exercerem suas funções. A molécula sinalizadora tem vida curta.

endócrina: células sinalizadoras (endócrinas) secretam moléculas sinalizadoras chamadas hormônios que se distribuem por todo o corpo através da corrente sanguínea, indo atuar em células-alvo distantes. A molécula sinalizadora tem vida longa.

por neurotransmissor: quando o impulso que se propaga pelo axônio provoca a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica, os quais irão atuar em células próximas ao terminal axônico. Assim, a molécula sinalizadora, chamada neurotransmissor, viaja grandes distâncias, mas não no sangue ou no meio extracelular e sim dentro de prolongamentos celulares dos neurônios, os axônios, indo atingir a célula-alvo longe do corpo celular do neurônio que emitiu o sinal, mas próximo do axônio onde a molécula sinalizadora foi secretada.

neuroendócrina: por neurônios que secretam hormônios: células neuroendócrinas do hipotálamo respondem a estímulos recebidos de outras células nervosas, secretando hormônios que são liberados no pedículo hipofisário, penetram nos capilares sanguíneos e vão estimular ou inibir a atividade secretora das células da parte anterior hipófise.

10) Na corrente sanguínea circulam muitos hormônios (moléculas sinalizadoras), secretados por diferentes células sinalizadoras, e que atingirão várias células. Por que apenas um pequeno número dessas células responderá ao sinal?

Resposta: porque só algumas possuem o receptor adequado para cada tipo de hormônio. Assim, somente essas células responderão ao sinal.

11) Existem 3 grandes famílias de receptores de superfície celular: receptores de canais iônicos, receptores catalíticos (enzimáticos) e receptores acoplados à proteína G. Estas famílias diferem na natureza do sinal que geram, após sua ligação com a molécula sinalizadora extracelular. Compare-as.

Resposta: receptores de canais iônicos: abrem-se quando ativados pela molécula sinalizadora, permitindo a passagem de íons específicos. O sinal resultante é um fluxo de íons pela membrana capaz de gerar mudanças no potencial da membrana de uma célula.

receptores catalíticos (enzimáticos): atuam como enzimas ou se associam a elas no interior das células. Um receptor desse tipo passa a informação recebida por meio de atividade enzimática e, para fazê-lo, tem que ter dois domínios especiais: o que reconhece o ligante, exposto na superfície da célula, e o sítio catalítico, voltado para o citoplasma. Quando o ligante é reconhecido pela parte exposta do receptor, a mudança conformacional resultante da ligação ligante/receptor torna ativo o sítio catalítico intracelular. Na sua maioria são tirosina quinases que se fosforilam reciprocamente e depois fosforilam muitas outras proteínas que passam a informação adiante.

receptores acoplados à proteína G: ativam a proteína G, uma classe de proteína trimérica ligadora de GTP que se encontra ligada à membrana plasmática. Uma vez ativada, a proteína G ativa mensageiros secundários que disparam uma enorme diversidade de eventos celulares.

12) Como a transcrição de certos genes pode ser influenciada em resposta a um sinal extracelular?

Resposta: Quando o ligante é hidrofílico, a ligação da molécula sinalizadora (hormônio, por exemplo) a receptores da superfície celular deflagra uma cascata de sinalização através da fosforilação das proteínas citosólicas, podendo ativar também a transcrição gênica pela fosforilação de fatores de transcrição.

Quando o ligante é hidrofóbico, a formação do complexo hormônio-receptor com receptores citosólicos provoca uma alteração conformacional que permite a entrada do complexo hormônio-receptor no núcleo e a ligação a sequências específicas de DNA para regular a transcrição gênica. Alguns ligantes hidrofóbicos como por exemplo, os hormônios tireoideanos, também podem se ligar diretamente a receptores intracelulares nucleares, ativando a transcrição gênica.

13) Qual o tipo de modificação covalente reversível em proteínas mais frequente nas cascatas de sinalização intracelular? Quais são as enzimas que catalisam esta modificação?

Resposta: A adição de um grupo fosfato (fosforilação) em proteínas. Proteínas que podem ser fosforiladas alternam entre um estado ativado (com fosfato) e outro inativo (sem fosfato). As quinases são as enzimas que adicionam o fosfato nas proteínas, ativando-as, enquanto as fosfatases removem o fosfato, inativando-as.

INTEGRAÇÃO DE CONHECIMENTOS

1) A eritropoietina (EPO), um fator de crescimento secretado pelos rins, é essencial para a diferenciação terminal dos glóbulos vermelhos (eritrócitos) do sangue na medula óssea. A EPO se liga a um receptor (da) EPO de (a) transmembrana encontrado nas células precursoras do eritroide. A EPO é um exemplo de um sinal autócrino, parácrino, por contato, endócrino, por neurotransmissor ou neuroendócrino? Justifique.

Resposta: A EPO é um exemplo de sinalização endócrina, pois o hormônio eritropoietina é enviado do rim à medula óssea via sangue.

2) A concentração intracelular de íons cálcio é mantida baixa por vários mecanismos, como trocadores iônicos e ATPases cálcio dependentes presentes na membrana plasmática e na membrana do retículo endoplasmático, ou também por transporte ativo da membrana mitocondrial interna ou proteínas que se ligam ao cálcio no citosol. Quando ocorre uma sinalização, a súbita elevação de concentração (um pico de concentração) é prontamente percebida e provoca modificações no comportamento celular. Sendo assim, o cálcio funciona como mensageiro. Em relação ao texto e conhecimentos correlatos, responda:

Em que tipo de classe de mensageiro os íons cálcio se encaixam? Justifique sua resposta a partir de informações do texto e dê um exemplo de sinalização envolvendo os íons cálcio.

Resposta: segundos mensageiros, pois são encontrados em concentração baixa no meio intracelular e, quando ocorre uma sinalização, a elevação súbita da sua concentração provoca modificações no comportamento celular. Nos músculos esqueléticos, por exemplo, o potencial de ação que se propaga pelos túbulos T promove a liberação de íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático. Estes, por sua vez, ativam as forças atrativas entre os filamentos de miosina e actina, fazendo com que eles deslizem ao lado um do outro, promovendo a contração do sarcômero.

3) Os neurônios olfativos possuem centenas de receptores acoplados à proteína G (cada neurônio tem receptores para apenas um tipo de odor). Quando as moléculas odoríferas se ligam aos receptores, eles ativam uma proteína G especial, que ativa enzima adenilato ciclase, que produz AMP cíclico (AMPc). Uma das funções mais interessantes do AMPc é servir de mensageiro secundário em neurônios olfativos, abrindo canais de sódio desses neurônios. Qual a relação entre a abertura dos canais de sódio na membrana celular dos neurônios olfativos e a possibilidade de percepção do cheiro pelo cérebro?

Resposta: A abertura dos canais de sódio levará à despolarização da membrana dos neurônios olfativos, permitindo a geração de um potencial de ação que conduzirá o impulso nervoso adiante até atingir o cérebro.

4) Todo mensageiro secundário que se preza normalmente está presente em baixíssimas concentrações no citoplasma. Quando ocorre uma sinalização, a súbita elevação de concentração (um pico de concentração) é prontamente percebida e provoca modificações no comportamento celular. Nos músculos, por exemplo, o cálcio pode ser apenas um intermediário na cascata. Mas nem sempre o efeito do cálcio é direto; ele também modifica o comportamento de várias outras proteínas, como a troponina e a calmodulina. Baseando-se no tema e em conhecimentos correlatos, responda:

a) Que tipo de sinalização promove a súbita elevação da concentração de cálcio no sarcoplasma? Qual é o nome da molécula sinalizadora?

Resposta: Sinalização por neurotransmissor. A molécula sinalizadora é a acetilcolina.

b) Onde o cálcio é armazenado (fontes internas de cálcio) durante o período de relaxamento muscular:

- no músculo esquelético: **retículo sarcoplasmático**

- no músculo cardíaco: **retículo sarcoplasmático e túbulos T (possuem grande quantidade de mucopolissacarídeos com carga negativa que se ligam a íons cálcio, mantendo-os sempre disponíveis para se difundirem pelo interior das fibras do miocárdio quando ocorre o potencial de ação nos túbulos T).**

- no músculo liso: **cavéolas**

c) Como ocorre o efeito modificador do cálcio no comportamento da troponina nos músculos esquelético e cardíaco, e da calmodulina nos músculos lisos, de modo a permitir o deslizamento dos filamentos de actina sobre os de miosina?

- troponina: **a combinação dos íons cálcio com a unidade TnC da troponina promove uma mudança da configuração espacial das 3 subunidades da troponina, que empurra a tropomiosina mais para dentro do sulco da hélice de actina, permitindo exposição do sítio de ligação da actina com a miosina e, por conseguinte, a ativação do complexo miosina-ATP com consequente deslizamento da actina sobre a miosina.**

- calmodulina: o complexo calmodulina- Ca^{2+} ativa a enzima quinase da cadeia leve da miosina II promovendo a fosforilação das moléculas de miosina II, que então toma a forma filamentosas, permitindo assim que os sítios com atividade ATPásica sejam descobertos e combinem-se com a actina.

5) No pênis, a liberação de óxido nítrico (NO) pela inervação autônoma local age sobre a musculatura lisa, ativando enzimas cujos produtos dilatam os vasos que se enchem de sangue, causando a ereção. Sabendo-se que o NO atravessa a membrana plasmática por difusão simples, saindo da célula na qual foi produzido e se espalhando rapidamente pelas células vizinhas, onde ativa diretamente enzimas intracelulares, responda ao que se pede:

a) A sinalização por NO exemplifica uma sinalização por ligante hidrofílico ou hidrofóbico? Justifique. **Resposta:** hidrofóbico, pois apenas o sinal de natureza hidrofóbica atravessa a membrana plasmática por difusão (quando o sinal tem natureza hidrofílica, não atravessa a membrana plasmática por difusão).

b) O texto faz menção a 2 tipos de comunicação por moléculas entre as células. Quais são eles? Justifique a sua resposta mediante trecho do texto.

Resposta: por neurotransmissor: ...a liberação de óxido nítrico (NO) pela inervação autônoma local...

parácrina: ...o NO atravessa a membrana plasmática por difusão simples, saindo da célula na qual foi produzido e se espalhando rapidamente pelas células vizinhas, onde ativa diretamente enzimas intracelulares...

6) Dado um estímulo ao nível de receptores de membrana, a contração muscular ocorre pela entrada de cálcio para a célula. O aumento do cálcio intracelular na musculatura lisa leva à sua contração. No processo de relaxamento ou vasodilatação ocorre o contrário.

Sabe-se que na célula muscular lisa a ativação da proteína Gq induz aumento da atividade da fosfolipase C (PLC), que degrada fosfolípidos da membrana aumentando a concentração sarcoplasmática de trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 por sua vez leva à liberação para o sarcoplasma de íons cálcio sequestrados no interior da célula, o que induz a contração muscular. Já para o relaxamento muscular, o endotélio, pela inervação autônoma local, libera um fator capaz de relaxar a musculatura lisa vascular, óxido nítrico (NO). Este gás difunde-se facilmente para a musculatura vascular, onde vai induzir uma ativação da guanilciclase e conseqüente aumento da concentração intracelular de GMPc, um potente relaxador da musculatura lisa. Em relação à musculatura lisa e conhecimentos sobre sinalização celular, responda:

a) A sinalização pela proteína Gq e por NO exemplificam, respectivamente, sinalização por ligante hidrofílico ou hidrofóbico? Justifique para validar o item.

Resposta: hidrofílico (Gq) e hidrofóbico (NO). Os ligantes hidrofílicos, por não atravessarem a membrana, são reconhecidos por proteínas expostas na superfície da célula-alvo, ou seja, por proteínas receptoras transmembrânicas como os receptores acoplados à proteína Gq. Já os ligantes hidrofóbicos, como o NO, são moléculas pequenas e hidrofóbicas que podem atravessar a bicamada lipídica, sendo reconhecidos no citoplasma por proteínas receptoras internas.

b) Como a entrada de cálcio para o sarcoplasma da célula leva à contração da musculatura lisa?

Resposta: Os íons cálcio combinam-se com moléculas de calmodulina, uma proteína com afinidade para esses íons presente no sarcoplasma das fibras musculares lisas. O complexo calmodulina- Ca^{2+} ativa a enzima quinase da cadeia leve da miosina II promovendo a fosforilação das moléculas de miosina II, que então tomam a forma filamentosas. Isto permite que os sítios com atividade ATPásica sejam descobertos e combinem-se com a actina. A liberação de energia do ATP promove a deformação da cabeça da miosina II, com conseqüente deslizamento dos filamentos de actina sobre os de miosina, o que caracteriza o processo de contração.

c) O texto faz menção a 2 tipos de mensageiros importantes na sinalização celular. Quais seriam, respectivamente, os mensageiros primário(s) e secundário(s) mencionados no texto? Justifique.

Resposta: Mensageiros primários: receptores acoplados à proteína Gq ativados por ligantes hidrofílicos, e guanilciclase ativada por NO.

Mensageiros secundários: fosfolipase C (PLC), trifosfato de inositol (IP3), diacilglicerol (DAG), íons cálcio, GMPc.

Justificativa: Os mensageiros secundários são aqueles cujos níveis são alterados após ativação do receptor pelo ligante (1º mensageiro ou mensageiro primário). Todo mensageiro secundário encontra-se presente em baixas concentrações no citoplasma. Quando ocorre uma sinalização, a súbita elevação de sua concentração é prontamente percebida e provoca modificações no comportamento celular.

d) O texto também faz menção a 2 tipos de comunicação por moléculas entre as células. Quais são eles? Justifique a sua resposta mediante trecho do texto, indicando os nomes das moléculas sinalizadoras.

Resposta: por neurotransmissor: Já para o relaxamento muscular, o endotélio, pela inervação autônoma local...

Molécula sinalizadora: noradrenalina (sistema nervoso simpático), pois é a transmissão simpática que conduz ao relaxamento da musculatura lisa visceral, enquanto a transmissão parassimpática leva à sua contração.

parácrina: Já para o relaxamento muscular, o endotélio... libera um fator capaz de relaxar a musculatura lisa vascular, óxido nítrico (NO). Este gás difunde-se facilmente para a musculatura vascular, onde vai induzir ... um potente relaxador da musculatura lisa. Molécula sinalizadora: NO.

OBS.: Na transmissão por neurotransmissor será também aceito como resposta noradrenalina e acetilcolina, desde que o aluno coloque os dois neurotransmissores e explique que depende do estímulo ter chegado pela inervação simpática (noradrenalina) ou parassimpática (acetilcolina).

e) Geralmente, células de mamíferos são cultivadas em placas de cultura de tecido para o estudo de suas propriedades de crescimento. Se uma população de células primárias de músculo liso for colocada em uma placa com meio de cultura onde foi adicionado soro contendo um fator de crescimento epidérmico e as células possuem somente receptores de fator de crescimento derivado de plaquetas em sua superfície, o crescimento será estimulado? Explique sua resposta para validar o item.

Resposta: Não, pois o receptor de fator de crescimento derivado de plaquetas das células não reconhecerá o fator de crescimento epidérmico como um ligante (ou não, pois as células não têm receptor para o fator de crescimento epidérmico; assim não responderão ao seu estímulo).