

Biofísica para Biólogos

**Carla Maria Lins de Vasconcelos
Eduardo Antônio Conde Garcia**



**São Cristóvão/SE
2009**

Biofísica para Biólogos

Elaboração de Conteúdo

Carla Maria Lins de Vasconcelos
Eduardo Antônio Conde Garcia

Projeto Gráfico e Capa

Hermeson Alves de Menezes

Diagramação

Lucílio do Nascimento Freitas

Ilustração

Luzileide Silva Santos

Reimpressão

Copyright © 2009, Universidade Federal de Sergipe / CESAD.
Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização por escrito da UFS.

**FICHA CATALOGRÁFICA PRODUZIDA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

V331b Vasconcelos, Carla Maria Lins de.
Biofísica para biólogos / Carla Maria Lins de Vasconcelos e
Eduardo Antônio Conde Garcia -- São Cristóvão:
Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2009.

1. Biofísica. 2. Eletroforese. 3. Efeitos biológicos I. Garcia
Eduardo Antônio Conde. II. Título.

CDU 577.3

Presidente da República

Luiz Inácio Lula da Silva

Chefe de Gabinete

Ednalva Freire Caetano

Ministro da Educação

Fernando Haddad

Coordenador Geral da UAB/UFS**Diretor do CESAD**

Antônio Ponciano Bezerra

Secretário de Educação a Distância

Carlos Eduardo Bielschowsky

Vice-coordenador da UAB/UFS**Vice-diretor do CESAD**

Fábio Alves dos Santos

Reitor

Josué Modesto dos Passos Subrinho

Vice-Reitor

Angelo Roberto Antonioli

Diretoria Pedagógica

Clotildes Farias (Diretora)

Hérica dos Santos Mota

Iara Macedo Reis

Daniela Souza Santos

Janaina de Oliveira Freitas

Núcleo de Avaliação

Guilhermina Ramos (Coordenadora)

Carlos Alberto Vasconcelos

Elizabeth Santos

Marialves Silva de Souza

Diretoria Administrativa e Financeira

Edélzio Alves Costa Júnior (Diretor)

Sylvia Helena de Almeida Soares

Valter Siqueira Alves

Núcleo de Serviços Gráficos e Audiovisuais

Giselda Barros

Núcleo de Tecnologia da Informação

João Eduardo Batista de Deus Anselmo

Marcel da Conceição Souza

Coordenação de Cursos

Djalma Andrade (Coordenadora)

Assessoria de Comunicação

Guilherme Borba Gouy

Núcleo de Formação Continuada

Rosemeire Marcedo Costa (Coordenadora)

Coordenadores de Curso

Denis Menezes (Letras Portugêses)

Eduardo Farias (Administração)

Haroldo Dorea (Química)

Hassan Sherafat (Matemática)

Hélio Mario Araújo (Geografia)

Lourival Santana (História)

Marcelo Macedo (Física)

Silmara Pantaleão (Ciências Biológicas)

Coordenadores de Tutoria

Edvan dos Santos Sousa (Física)

Geraldo Ferreira Souza Júnior (Matemática)

Janaina Couvo T. M. de Aguiar (Administração)

Priscilla da Silva Góes (História)

Rafael de Jesus Santana (Química)

Ronilse Pereira de Aquino Torres (Geografia)

Trícia C. P. de Santana (Ciências Biológicas)

Vanessa Santos Góes (Letras Portugêses)

NÚCLEO DE MATERIAL DIDÁTICO

Hermeson Menezes (Coordenador)

Edvar Freire Caetano

Isabela Pinheiro Ewerton

Lucas Barros Oliveira

Neverton Correia da Silva

Nycolas Menezes Melo

Tadeu Santana Tartum

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Cidade Universitária Prof. "José Aloísio de Campos"

Av. Marechal Rondon, s/n - Jardim Rosa Elze

CEP 49100-000 - São Cristóvão - SE

Fone(79) 2105 - 6600 - Fax(79) 2105- 6474

Sumário

AULA 1	
Biofísica das membranas biológicas	07
AULA 2	
Potencial de membrana e potencial de ação	27
AULA 3	
Biofísica da visão	47
AULA 4	
Biofísica da audição	63
AULA 5	
Eletroforese	79
AULA 6	
Biofísica das radiações ionizantes	97
AULA 7	
Interação da radiação com a matéria	117
AULA 8	
Efeitos biológicos das radiações ionizantes	127

BIOFÍSICA DAS MEMBRANAS BIOLÓGICAS

META

Discutir as principais propriedades biofísicas das membranas biológicas e o conhecer o mecanismo de transporte de solutos através da membrana.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:

descrever e esquematizar os principais modelos estruturais da membrana plasmática;

descrever a composição química da membrana plasmática;

compreender a importância da fluidez para a membrana e os fatores que influenciam a fluidez;

discutir os tipos de transportes de solutos através da membrana plasmática e seus transportadores;

relacionar as diferenças entre um transporte mediado por canal e carreador; e

conhecer o mecanismo de transporte mediado pela Bomba de Na^+/K^+ e sua importância para a célula.

PRÉ-REQUISITOS

Antes de iniciar o estudo da biofísica das membranas biológicas, faça uma leitura sobre a estrutura da membrana plasmática em um livro de Biologia Celular.

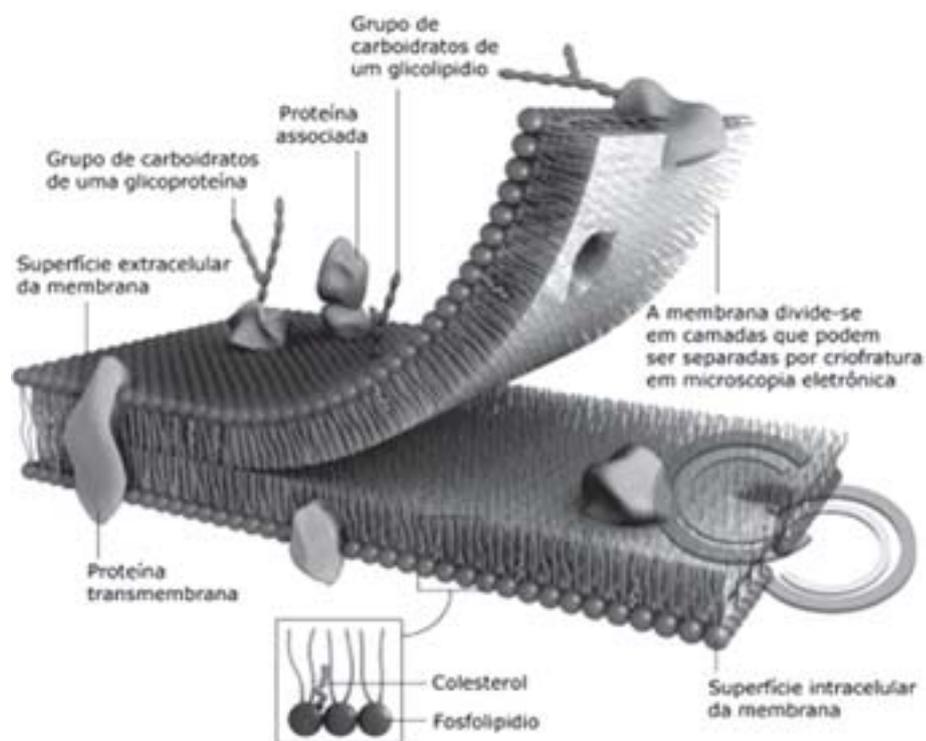


Modelo de membrana plasmática desenvolvido por alunos do ensino médio (Fonte: <http://doracyfreire12.blogspot.com>).

INTRODUÇÃO

A membrana celular, também chamada de membrana plasmática, membrana citoplasmática ou plasmalema é o envoltório que toda célula possui. Os compartimentos internos, as organelas, também são envoltas por uma membrana. Ela define os limites da célula e, com isso, mantém as diferenças de composição entre os meios intracelular e extracelular. A espessura varia e, geralmente, está entre 6 a 9 nm. Como tem dimensões pequenas, somente é possível visualizá-las através de um microscópio eletrônico.

Elas são constituídas basicamente de proteínas, lipídios e carboidratos. A membrana, por separar os meios intra e extracelular, seleciona as substâncias que devem passar, ou não, pela membrana. Essas substâncias podem ser transportadas sem gasto de energia (transporte passivo) ou com gasto de energia (transporte ativo). Neste capítulo discutiremos a evolução dos modelos de membrana até chegar no modelo mais aceito, algumas propriedades físicas da membrana e como se processa o transporte de pequenas moléculas através da membrana celular.



(Fonte: <http://1.bp.blogspot.com>).

BIOFÍSICA DAS MEMBRANAS BIOLÓGICAS

Cada célula é envolvida por uma membrana plasmática que a separa do meio extracelular. A membrana plasmática serve como uma barreira de permeabilidade que permite com que a célula mantenha a composição citoplasmática diferente da composição do fluido extracelular. A membrana contém enzimas, receptores e antígenos importantes na interação com hormônios, agentes reguladores e também com outras células (Berne & Levy, 2008, p.3). Além disso, muitas proteínas formam canais ou carreadores na membrana para permitir o transporte de substâncias através da membrana.

EVOLUÇÃO DOS MODELOS DE MEMBRANA

Desde o início do século XX, diversos modelos moleculares foram propostos para a membrana plasmática:

1. Gorter & Grendel (1925) – Esses pesquisadores propuseram o primeiro modelo estrutural para a membrana biológica. Trabalhando com eritrócitos, eles conseguiram isolar os lipídios da membrana utilizando um solvente orgânico. Eles verificaram que os lipídios extraídos, quando espalhados sobre uma superfície aquosa, ocupavam uma área duas vezes maior do que a superfície do eritrócito. Tal observação levou a hipótese de uma membrana formada por uma dupla camada de lipídios, com as extremidades apolares voltadas para os meios intra e extracelular, enquanto as extremidades polares estariam voltadas para o interior da membrana (Fig. 1). Os lipídios das membranas são moléculas longas e anfipáticas: possuem uma extremidade hidrofílica (polar) e, portanto, solúvel em água, e outra hidrofóbica (apolar), insolúvel em água.

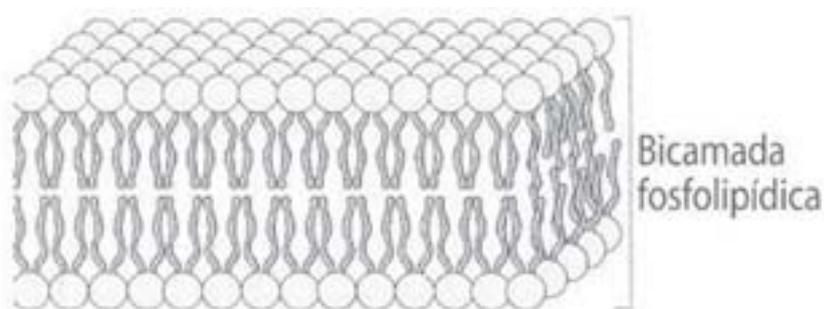


Figura 1. Modelo de membrana celular proposto por Gorter & Grendel (1925).

2. Danielli & Davson (1935) – Nesse modelo, a membrana seria formada pela bicamada lipídica com a participação de proteínas na membrana celular. Essas proteínas estariam situadas completamente fora da bicamada lipídica, em ambas as faces da membrana, tanto citoplasmática quanto não-citoplasmática (Fig. 2). A membrana seria composta por 40 a 50 % de proteínas e 50 a 60 % de lipídios.

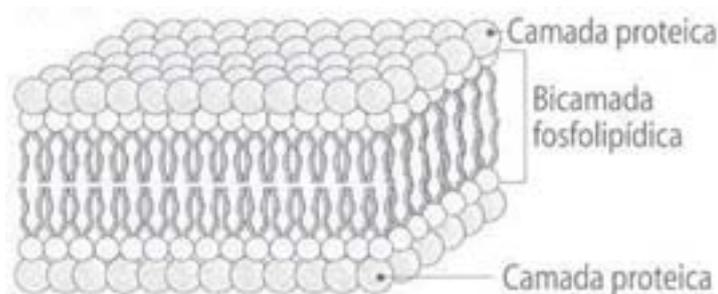


Figura 2. Modelo de membrana celular proposto por Danielli & Davson (1935).

3. Robertson (1957-1959) – Propôs um modelo de membrana formada pela bicamada de lipídios revestida por proteínas globulares situadas completamente fora da bicamada lipídica (Conde-Garcia, 1998, p.5).

4. Stein & Danielli (1956) - O modelo admitia a presença de poros hidrofílicos formados por proteínas atravessando toda a extensão da bicamada lipídica. Esse poro foi idealizado para justificar a comunicação da célula com o meio externo (Fig. 3).

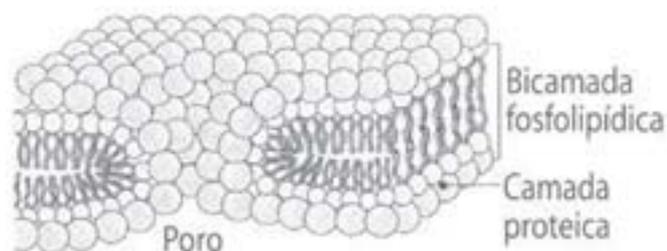


Figura 3. Modelo de membrana celular proposto por Stein & Danielli (1956).

5. Lucy & Glauert (1964) – Eles propuseram que a membrana da célula seria formada por micelas lipídicas (arranjo esférico de lipídios). Em ambas as faces da membrana, ela estaria recoberta por proteínas (Fig. 4).



Figura 4. Modelo de membrana celular proposto por Lucy & Glauert (1964) (Conde-Garcia, 1998, p.5).

6. Benson (1966) – idealizou um modelo de membrana formada por uma matriz de proteínas onde os lipídios estariam mergulhados nessa matriz protéica (Fig. 5A).

7. Lenard & Singer (1966) – sugeriram um modelo de membrana formada por uma dupla camada descontínua de lipídeos no qual as proteínas estariam fixadas (Fig. 5B).

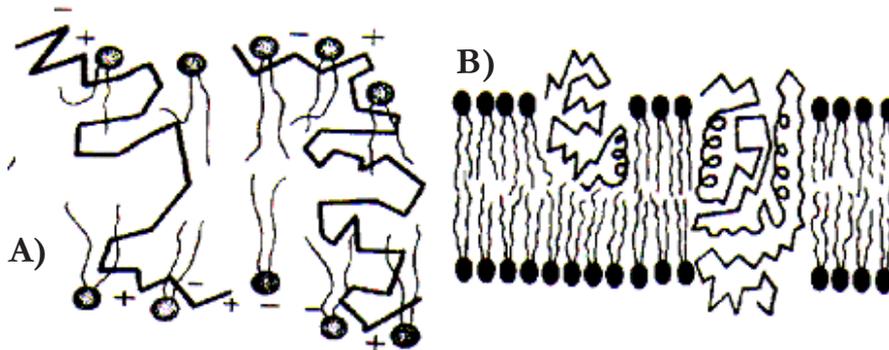


Figura 5. Modelos de membrana celular proposto por Benson (A) e Lenard & Singer (B) (Conde-Garcia, 1998, p.5).

8. Singer & Nicolson (1972) - O atual Modelo para as membranas celulares é o do mosaico fluido proposto por Singer & Nicolson, em 1972. Os cientistas postularam a existência de um mosaico de moléculas protéicas colocadas em uma camada fluida de lipídios. Com o advento do microscópio eletrônico tornou-se possível visualizar diretamente a estrutura da membrana, revelando uma estrutura tri-lamellar, consistindo em duas camadas eletrodensas separadas por uma eletrotranslúcida. Neste modelo, os lipídios estão organizados com suas cadeias apolares voltados para o interior da membrana, enquanto as cabeças polares ficam voltadas para o meio extracelular ou citoplasmático. Essas duas camadas lipídicas estão associadas devido à interação das cadeias hidrofóbicas.

As proteínas foram classificadas como extrínsecas ou periférica (proteína de superfície) ou intrínsecas ou integrais (atravessam toda a espessura da membrana). As proteínas extrínsecas poderiam ser externa (voltada para o meio extracelular) ou interna (voltada para o meio intracelular). A proteína externa poderia atuar como receptor de membrana e a interna como enzima. A proteína intrínseca teria a função no transporte de solutos ou poderia exercer também as mesmas funções de uma proteína extrínseca. Além dos lipídios e proteínas, a membrana seria revestida, na sua monocamada externa, por carboidratos (glicoproteínas ou glicolipídios). Essa camada é chamada de glicocálice e tem a função de reconhecimento celular (Fig. 6).

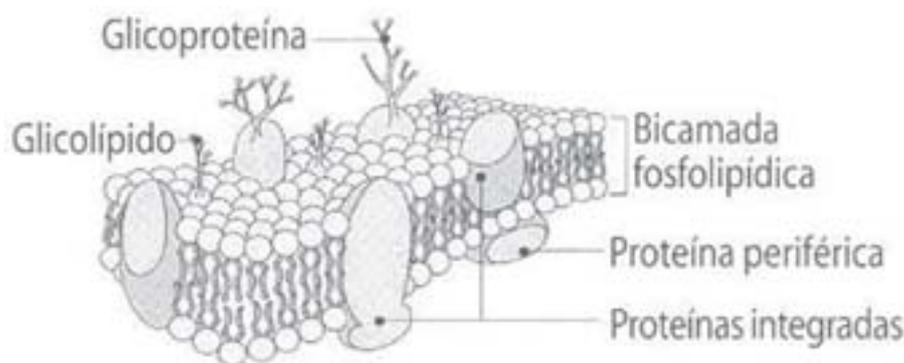


Figura 6. Modelo de membrana celular proposto por Singer & Nicolson (1972).

PARÂMETROS ELÉTRICOS DA MEMBRANA CELULAR

1. Rigidez dielétrica da membrana. Existe entre o citosol e o meio extracelular uma diferença de potencial elétrico, que varia entre -60 a -90 mV. Isso significa dizer que o citosol é mais negativo em relação ao meio extracelular. Levando em consideração a pequena espessura da membrana (70 angstrom), a diferença de potencial existente cria um campo elétrico muito alto no interior da membrana. Para uma membrana de 100 angstrom e uma diferença de voltagem de 100 mV entre os meios intra e extracelular, o campo elétrico no interior da membrana seria altíssimo, de aproximadamente 10.000.000 V/m (Conde-Garcia, 1998, p.8).

Obs. O **ångström** (Å) é uma medida de comprimento que se relaciona com o metro através da relação: $1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$. Ele faz parte da SI (Sistema Internacional de Unidades) e foi criada por um físico sueco Anders Jonas Ångström. O uso do ångström se mostrou necessário para medir distâncias menores que a nanômetro (10^{-9} m).

2. Capacitância da membrana. A membrana celular separa os meios intra e extracelular, dois meios condutores. Por isso, a membrana atua como um capacitor, que armazena cargas elétricas. A capacitância da membrana é de 1 mF/cm^2 (Aires, 2008, p.24). A capacitância (C) é medida pelo quociente da quantidade de carga (Q) armazenada pela diferença de potencial ou voltagem (V) que existe entre os dois lados da membrana. Pelo Sistema Internacional de Unidade (SI), um capacitor tem a capacitância de um Farad (F) quando um Coulomb de carga causa uma diferença de potencial de um Volt (V) entre as membranas.

$$C = \frac{Q}{V}$$

3. Resistência das membranas. As membranas celulares apresentam elevada resistência elétrica em torno de 1.000 a 8.000 W.cm^2 (Conde-Garcia, 1998, p.9).

COMPOSIÇÃO DA MEMBRANA CELULAR

As moléculas lipídicas constituem 50 % da massa da maioria das membranas de células animais, sendo o restante, constituído de proteínas. As moléculas lipídicas são anfipáticas, pois possuem uma extremidade hidrofílica ou polar (solúvel em meio aquoso) e uma extremidade hidrofóbica ou não-polar (insolúvel em água). Os três principais grupos de lipídios da membrana são os fosfolipídios, o colesterol e os glicolipídios.

Os fosfolipídios são os mais abundantes (fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomiéline, fosfatidilinositol) e possuem uma cabeça polar e duas caudas de hidrocarboneto hidrofóbicas (caudas de ácido graxo). As caudas podem apresentar diferenças no comprimento (14 a 24 átomos de carbono) e geralmente uma é insaturada, ou seja, apresenta uma dupla ligação cis. Essa dupla ligação promove uma flexão na cauda de lipídio (Fig. 7). Tanto o comprimento da cauda quanto a presença da dupla ligação influem na fluidez da membrana.

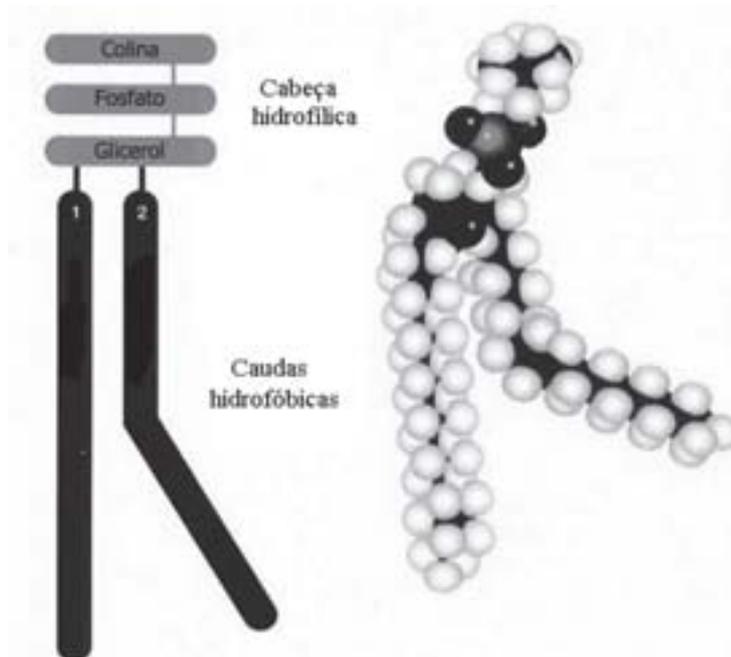


Figura 7. Molécula de fosfolipídio. Fosfatidilcolina, representada esquematicamente (esquerda) e modelo espacial (esquerda). A flexão é ocasionada pela dupla ligação. (Fonte: <http://html.rincondelvago.com>).

As moléculas de colesterol apresentam uma cabeça polar (grupo hidroxila) e, a sua região hidrofóbica possui anéis de esteróides e uma cauda de ácido graxo (Fig. 8). Os anéis do colesterol imobilizam a primeira porção da cadeia de ácido graxo do fosfolipídio adjacente. Dessa forma, ele torna a bicamada lipídica menos sujeita a deformações (menor fluidez), e assim, diminui a permeabilidade da membrana.

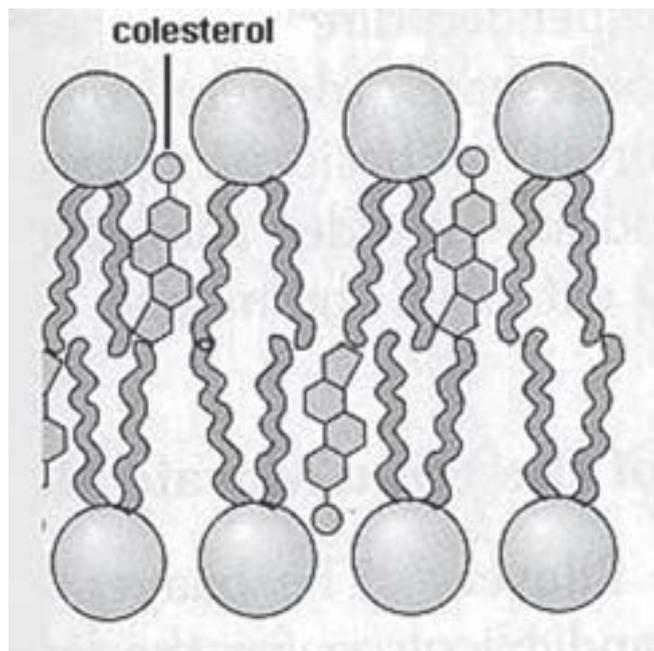


Figura 8. Representação da molécula de colesterol interposta entre os fosfolipídios de membrana (Fonte: <http://www.ar.geocities.com>).

A BICAMADA LIPÍDICA É UM FLUIDO BIDIMENSIONAL

A membrana plasmática não é uma estrutura estática, os lipídios movem-se proporcionando uma fluidez à membrana. Dentro da membrana, os lipídios podem realizar 04 tipos de movimentos (Fig. 9):

- a) Flip-Flop - é o movimento de passagem de um lipídio de uma monocamada para outra. Esse movimento ocorre raramente, aproximadamente 45 dias para cada lipídio realizar uma mudança de monocamada. Esse fato se deve a baixa afinidade da cabeça polar com as caudas de ácido graxo, dificultando a passagem da cabeça polar (hidrofílica) dentro da região apolar (hidrofóbica) da bicamada lipídica (Alberts et al., 2004).
- b) Difusão lateral – os lipídios movem-se lateralmente ao longo da extensão da camada.

- c) Rotação - Eles movem-se ao longo do seu próprio eixo, em um movimento rotacional.
 d) Flexão – Movimento das caudas hidrofóbicas dos lipídios.

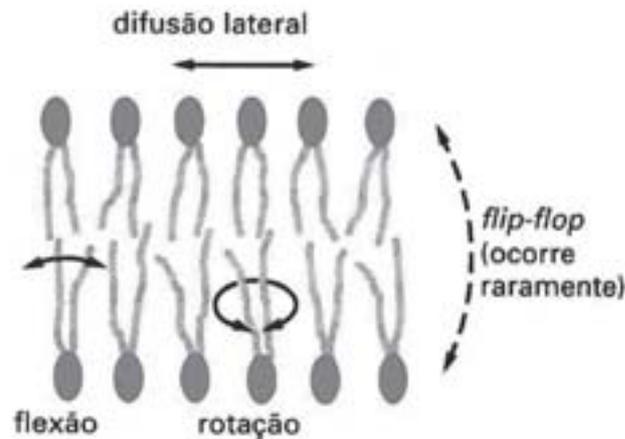


Figura 9. Tipos de movimentos possíveis realizados pelos fosfolipídios em uma bicamada lipídica (Alberts et al., 2004).

FLUIDEZ DE MEMBRANA PLASMÁTICA

A fluidez da membrana é controlada por diversos fatores físicos e químicos.

- a) A temperatura influencia na fluidez: quanto mais alta ou baixa, mais ou menos fluida será a membrana, respectivamente.
 b) O número de duplas ligações nas caudas hidrofóbicas dos lipídios também influencia a fluidez: quanto maior o número de insaturações, mais fluida a membrana. A insaturação promove uma flexão na cauda do lipídio mantendo os lipídios vizinhos afastados.
 c) Também a concentração de colesterol influencia na fluidez: quanto mais colesterol, menos fluida. O colesterol, por ser menor e mais rígido, interage mais fortemente com os lipídios adjacentes, diminuindo sua capacidade de movimentação.
 d) Tamanho da cauda do lipídio: quanto mais curta a cauda do fosfolipídio mais intensa será a flexão da cauda e, portanto, maior a fluidez da membrana.

A MEMBRANA PLASMÁTICA É ASSIMÉTRICA

As monocamadas externa e interna da membrana são assimétricas, tanto na composição de lipídios como de proteínas. A monocamada ex-

terna da membrana dos eritrócitos possui uma concentração maior de fosfatidilcolina e esfingomiéline, enquanto na monocamada interna predominam o fosfatidiletanolamina e a fosfatidilserina.

TRANSPORTE TRANSMEMBRANA

Existem várias formas através das quais as diversas substâncias podem atravessar a membrana celular. As principais e mais bem conhecidas são:

DIFUSÃO SIMPLES

Neste tipo de transporte, a substância passa do meio extracelular para o meio intracelular (ou vice-versa) diretamente através da bicamada lipídica. A substância é transportada do meio mais concentrado para o meio menos concentrado, em decorrência ao movimento aleatório das partículas devido a uma energia cinética da própria matéria. Não há gasto de ATP intracelular nem participação de proteínas carreadoras. Nesse transporte, a molécula se dissolve na bicamada lipídica, atravessa a membrana plasmática até alcançar o equilíbrio dentro e fora da célula (Cooper, 1997). Geralmente moléculas hidrofóbicas ou lipossolúveis são transportadas por difusão simples (Ex.: O_2 , CO_2 , N_2 , ácidos graxos, benzeno). Quanto menor o tamanho da partícula e maior a lipossolubilidade maior será a velocidade do transporte. As moléculas polares pequenas e sem carga, tais como H_2O , uréia e glicerol são capazes de se difundir através da membrana (Fig. 10). A água atravessa a membrana facilmente por possuir um baixo peso molecular (18 daltons) e uma alta energia cinética.

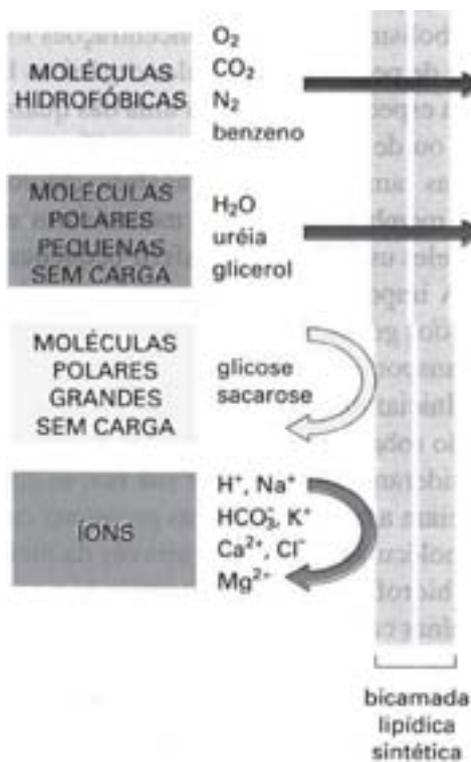


Figura 10. Transporte de solutos através da bicamada lipídica (Alberts et al., 2004).

DIFUSÃO FACILITADA

Esse tipo de transporte também ocorre do meio mais concentrado para o menos concentrado (transporte passivo) só que mediado por proteínas transportadoras. Essas proteínas são integrais e multipasso, ou seja, atravessam a membrana várias vezes. Elas apresentam múltiplas α -hélices atravessando a bica-

mada lipídica (Fig. 11). As substâncias transportadas por difusão facilitada não possuem afinidade com a bicamada lipídica. Geralmente as moléculas polares e grandes sem carga (glicose ou sacarose) e os íons (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- e H^+) são transportados por difusão facilitada (Fig. 10).

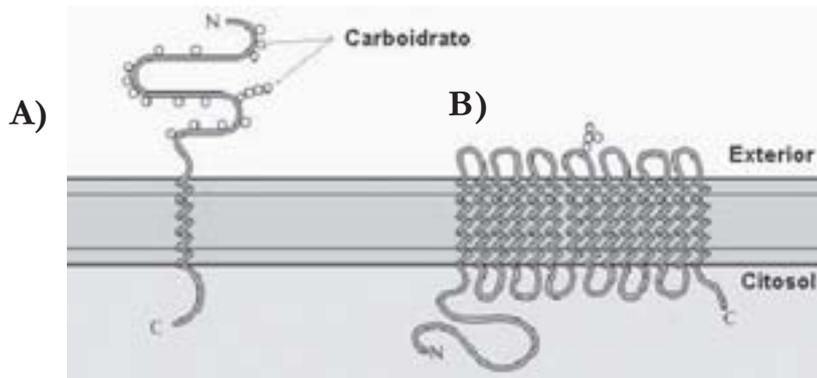


Figura 11. Proteína integral com apenas uma única α -hélice transmembranar (A, unipasso) e proteína integral com múltiplas α -hélices transmembranar (B, multi-passo). A proteína B atravessa a membrana 14 vezes (Cooper, 2000).

A difusão facilitada pode ser mediada por uma proteína *carreadora* ou por uma proteína *canal*.

DIFUSÃO FACILITADA MEDIADA POR CARREADOR

As proteínas *carreadoras* apresentam sítios de ligação para o soluto a ser transportado. Após a ligação do soluto à proteína carreadora, ela sofre mudança conformacional permitindo a passagem do soluto por dentro da proteína para o outro lado da membrana. Os carreadores geralmente transportam açúcares, aminoácidos e nucleotídeos. De acordo com o número de moléculas transportadas e o sentido do transporte, o transporte pode ser classificado em: uniporte, simporte e antiporte (Fig. 12).

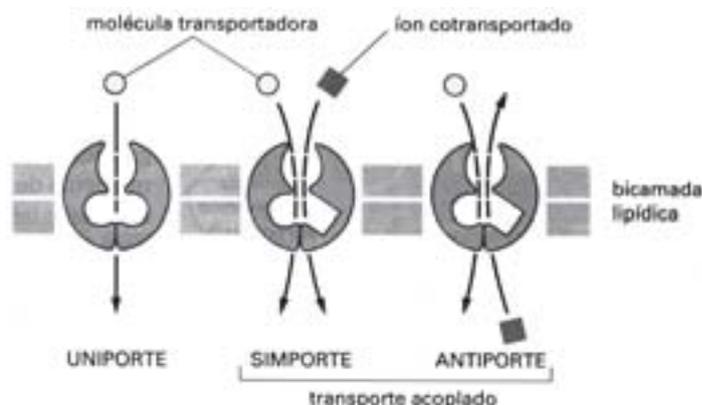


Figura 12. Classificação dos carreadores de membrana: uniporte, simporte ou antiporte (Alberts et al., 2004).

a) Uniporte – é uma proteína carreadora que transporta uma única molécula no mesmo sentido. Ex. carreador da glicose (transporta a glicose do meio extracelular para o intracelular).

b) Simporte - é uma proteína carreadora que transporta dois solutos diferentes no mesmo sentido. Geralmente, é um transporte acoplado entre uma molécula e um íon.

Exemplo: Proteína transportadora de Na^+ e glicose. Ela possui dois sítios receptores para a fixação de ambas substâncias situados na face externa da membrana celular. Tanto o Na^+ quanto a glicose são transportados para dentro da célula. O transporte da glicose ocorre de meio menos concentrado para o mais concentrado e só ocorre graças ao transporte simultâneo do sódio, que acontece do meio mais concentrado para o menos concentrado (<http://www.biofisica.ufsc.br>).

c) Antiporte - é uma proteína carreadora que transporta dois solutos diferentes em sentidos contrários. Ex. Trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$.

DIFUSÃO FACILITADA MEDIADA POR CANAL

Diferente da proteína carreadora, a proteína canal transporta o soluto ou íon sem se fixar ao soluto, ou seja, os canais não apresentam sítios de ligação para a molécula a ser transportada. O fluxo de íons pelo canal é passivo, movido pela concentração, pelo movimento térmico e pela diferença de potencial elétrico na membrana celular. Os canais iônicos são seletivos, ou seja, as dimensões pequenas do poro forçam a interação dos íons com resíduos de aminoácidos da proteína-canal, e por essas interações, os canais tornam-se seletivos (Cassola, 2000). Uma proteína canal sofre mudanças estruturais podendo apresentar dois estados conformacionais possíveis: um com o poro aberto e outro com o poro fechado (Fig. 12). O canal aberto permite a passagem do íon, do meio mais concentrado para o meio menos concentrado, enquanto que, o canal fechado não permite a passagem do íon. Os canais são compostos por *portões* ou *comportas* que controlam a passagem de íons pelo canal (Fig. 13).

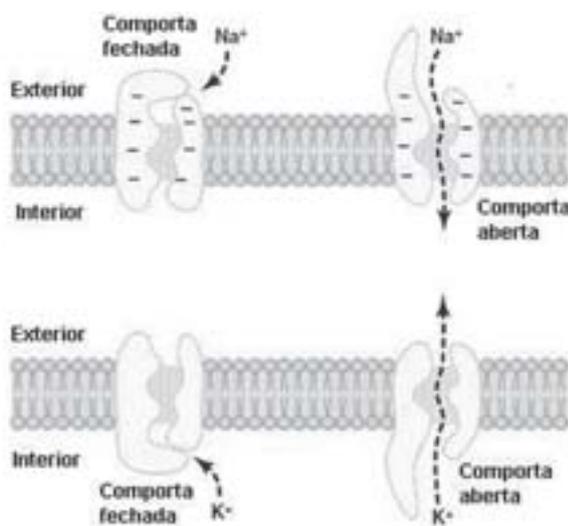


Figura 13. Representação dos canais de Na^+ e K^+ mostrando o transporte dos íons e as alterações conformacionais das “comportas” abrindo ou fechando os canais (Fonte: www.ceunes.ufes.br).

O canal de sódio é formado por duas subunidades protéicas, chamadas de α e β . A subunidade α possui 4 domínios (I, II, III e IV) inseridos na membrana celular (Fig. 14). Cada domínio é formado por 6 segmentos transmembranar (S1-S6), ou

seja, 6 hélices mergulhadas na membrana. Os grupos amino (NH_2) e carboxil (COOH) da proteína estão voltados para o interior da célula (Conde-Garcia, 1998, p. 38). O segmento S4 atua como o sensor de voltagem do canal. O sensor de voltagem é capaz de reconhecer a voltagem de célula e comandar a abertura ou fechamento do canal.

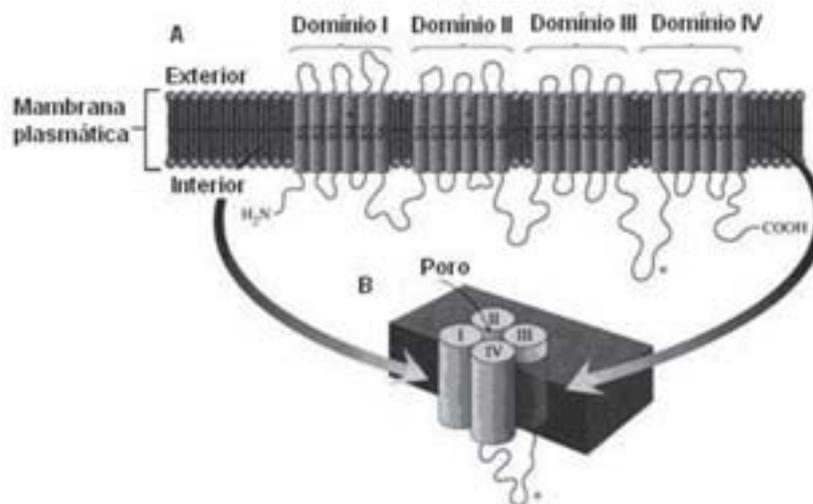


Figura 14. Estrutura do canal de sódio (A) mostrando os 4 domínios (I, II, III e IV) formados, cada um, de 6 segmentos transmembranar (S1 a S6) que se arranjam para formar o poro (B). (Fonte: <http://www.pharyngula.com>).

Como as comportas dos canais são controladas? Podem ser controladas de 3 formas básicas:

a) Voltagem – os canais que dependem da voltagem da célula para se abrir são chamados de *canais operados por voltagem* (VOC). (Fig. 15).

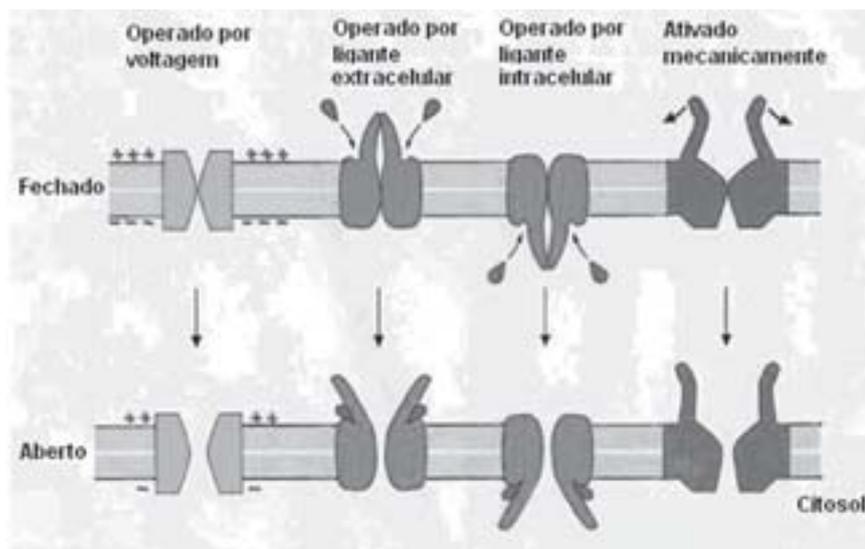


Figura 15. Representação das diferentes formas de ativação de um canal iônico de membrana

Exemplo: Canal de Na⁺ dependente de voltagem. Esse canal é um pouco mais complexo por possuir duas “comportas”: a) *comporta de ativação*, localizada próxima à extremidade externa do canal e b) *comporta de inativação*, localizada próxima à extremidade interna do canal (Fig. 16). Esse canal apresenta três estados possíveis: aberto, fechado e inativado.

1) No potencial de repouso da célula, em -90 mV, a comporta de ativação fica fechada, não há entrada de sódio na célula (*estado fechado*). Por outro lado, a comporta de inativação está aberta (Fig. 16A). 2) Entre -70 e -50 mV, a comporta de ativação sofre mudança conformacional, abrindo o canal (*estado aberto ou ativado*) (Fig. 16B). 3) O aumento da voltagem que abre a comporta de ativação também fecha a comporta de inativação (*estado inativado*) (Fig. 16C). O canal só volta para o estado fechado quando a voltagem da célula estiver próxima de -90 mV.

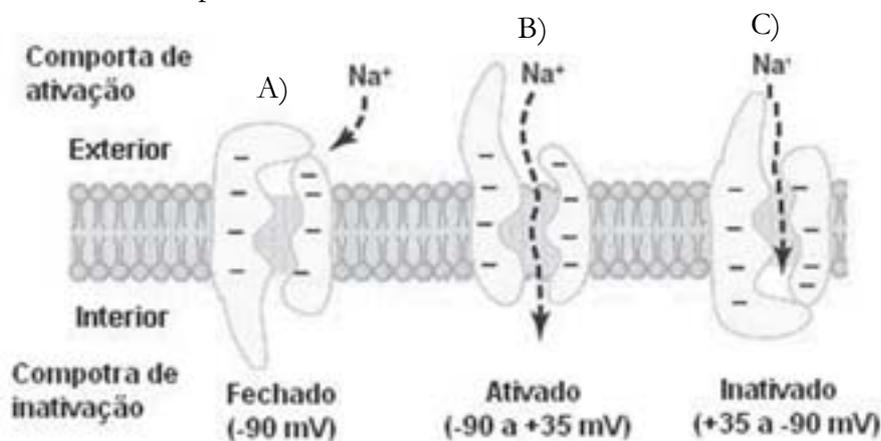


Figura 16. Característica do canal de Na⁺ operado por voltagem mostrando a ativação e inativação do canal de acordo com o potencial de membrana (Guyton, 2000, p.53, modificado por Vasconcelos, 2009).

b) Mediador químico – os canais em que a abertura da comporta depende da ligação de uma substância química ao canal são chamados de *canais operados por ligante* (LOC). (Fig. 15).

Exemplo: canal de potássio dependente de ATP (adenosina trifosfato). Esse canal se mantém fechado na presença de ATP (Conde-Garcia, 1998, p. 34). (Fig. 15).

c) Ativação mecânica - são canais em que a abertura da comporta depende de uma tensão mecânica aplicada à membrana, tal como, vibração, mudança do volume ou da forma celular, aceleração, entre outros (Conde-Garcia-Añoveros, 1997).

Uma animação de canal iônico, transporte passivo e ativo, para melhor exemplificação, pode ser conferida no site: <http://biology-animations.blogspot.com/search/label/transport%20animation>. Lá, clique em “transport animation”.

TRANSPORTE ATIVO

No transporte ativo, o soluto é transportado do meio menos concentrado para o mais concentrado. Para tanto, há consumo de ATP intracelular para transportar o soluto. As proteínas carreadoras que realizam este transporte são denominadas de *bomba*.

Exemplo: Bomba de Sódio e Potássio - transporta 3 íons Na^+ para o meio extracelular e 2 íons K^+ potássio para o meio intracelular, consumindo uma molécula de ATP. Ambos os íons são transportados de um meio menos concentrado para um mais concentrado do mesmo íon. É uma proteína formada por 2 subunidades, a α com uma massa relativa de 112.000 daltons (10 hélices) e a β com uma massa de 35.000 daltons (1 hélice). A bomba Na^+/K^+ é também uma enzima (ATPase) que hidrolisa ATP, com a liberação de ADP e a transferência de grupo fosfato à própria bomba. É a subunidade α que tem atividade ATPase e, nela, estão situados os sítios de ligação para os íons Na^+ e K^+ (Fig. 17).

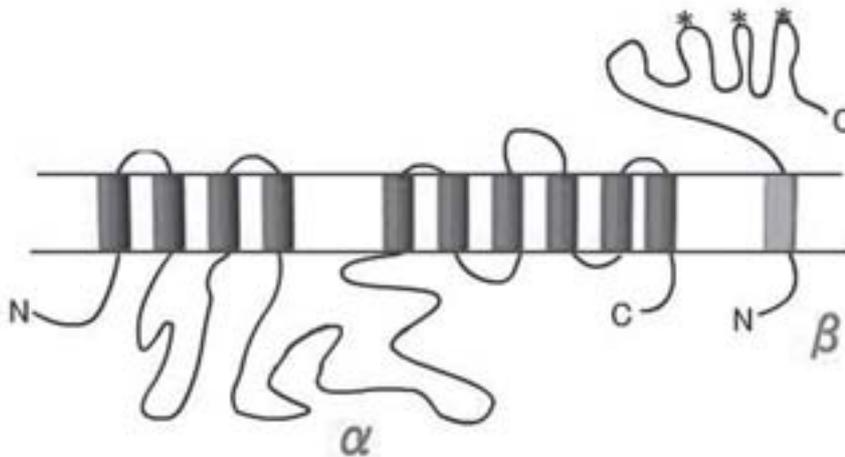


Figura 17. Representação estrutural da Bomba de Na^+ e K^+ mostrando as 2 subunidades, a α com 10 hélices e a β com 1 hélice.

Sequência de bombeamento da bomba de Na^+/K^+ : a bomba de Na^+/K^+ , na conformação I, expõe os sítios de ligação para o Na^+ . Ela fixa 3 Na^+ no interior da célula ativando a enzima ATPase. A ATPase hidroliza a molécula de ATP liberando ADP e P_i (fosfato inorgânico). O P_i é transferido para a bomba e, com isso, ela passa para a conformação II. Nessa conformação, o Na^+ é bombeado para o meio extracelular (de maior concentração) e ela fixa 2 íons K^+ . A ligação do K^+ à proteína promove uma desfosforilação da bomba, ou seja, liberação do P_i . A desfosforilação faz com que a proteína volte para a conformação I, bombeando os íons K^+ para o meio intracelular. Essa sequência pode ser vista na Fig. 18.

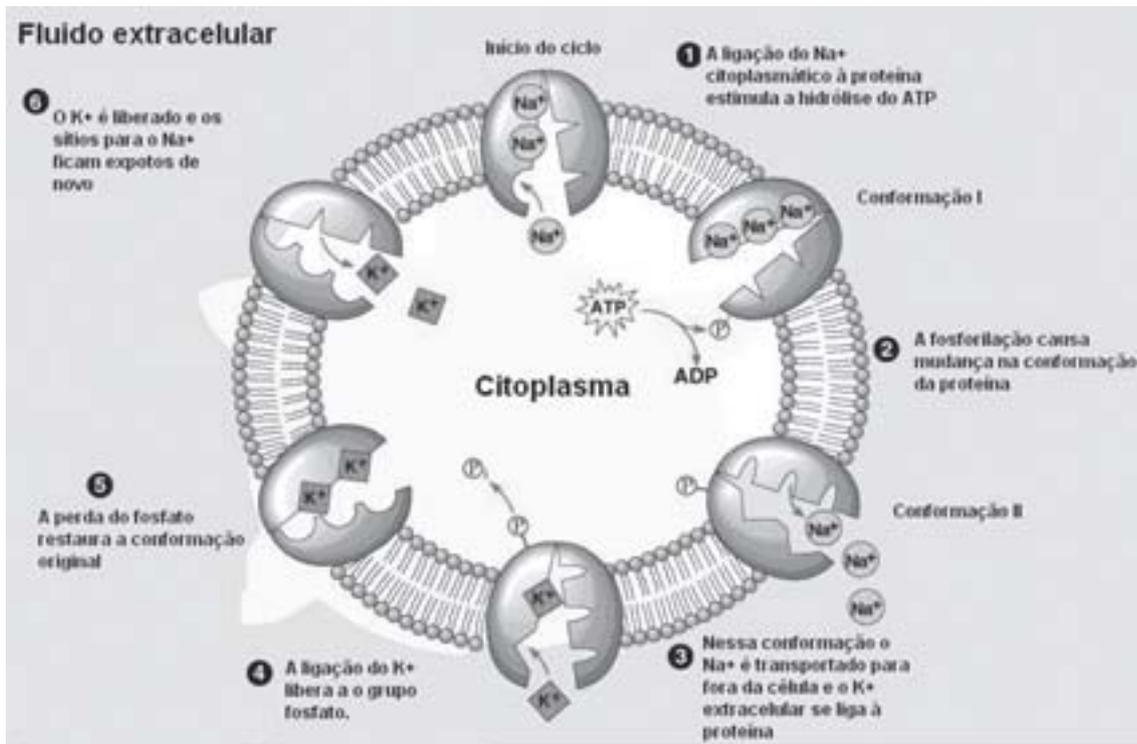


Figura 18. Sequência de transporte da bomba de Na^+/K^+ . (Fonte: <http://fajerpc.magnet.fsu.edu>).

IMPORTÂNCIAS DA BOMBA DE Na^+/K^+

a) Ela é eletrogênica, ou seja, cria uma diferença de potencial elétrico entre o citosol e o meio extracelular. Isso se deve ao fato dela bombear para o meio externo mais cátions (3 íons Na^+) do que para o meio interno (2 íons K^+). Dessa forma, a bomba contribui para que a célula fique mais negativa do que o meio extracelular. A diferença de potencial gerada pela bomba é de apenas -4 mV (Fig. 19).

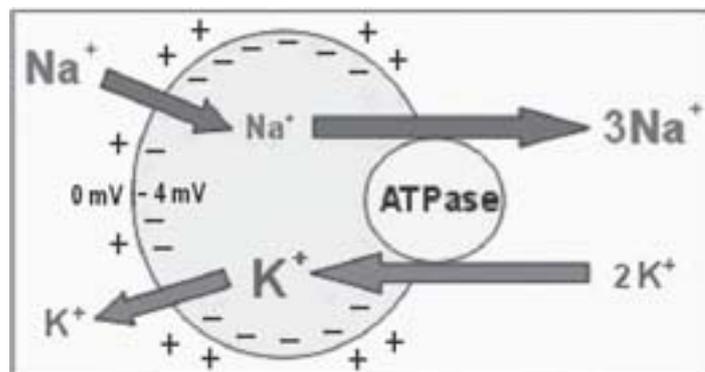


Figura 19. A bomba de Na^+/K^+ ATPase é eletrogênica

b) Ela cria um gradiente de concentração. A maioria das células animais mantém uma elevada concentração de K^+ (140 mM) e baixa concentração de Na^+ (14 mM) no citosol. No meio extracelular, a concentração de Na^+ é mantida alta (142 mM) enquanto que a concentração de K^+ é mantida baixa (4 mM). Essa diferença de concentração de Na^+ e K^+ entre o citosol e o meio extracelular se deve ao trabalho da bomba de Na^+/K^+ . A manutenção desse gradiente é importante para manter o potencial de repouso da célula (Aires, 2008, p.128; Guyton, 2006, p.51).

c) Ela controla o volume hídrico da célula. Por bombear mais cátions (Na^+) para o meio extracelular e pelo fato de a membrana apresentar baixa permeabilidade ao Na^+ , no potencial de repouso, o Na^+ bombeado para o exterior da célula, não retorna rapidamente para citosol. Ficando no meio extracelular, o Na^+ cria um gradiente osmótico favorável a saída da água da célula. Dessa forma, a bomba de Na^+/K^+ ajuda a manter o volume de água constante no citosol.

Você quer vê uma animação da bomba de Na^+/K^+ ? Consulte o site: http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/membrane_transport/membrane_transport.swf.

Exemplo: Bomba de cálcio. É uma proteína que possui 10 hélices e dois sítios receptores para o íon cálcio. Essas bombas são encontradas tanto na membrana plasmática quanto na membrana do retículo sarcoplasmático (RS). A bomba de Ca^{++} de membrana promove o efluxo de cálcio (do meio intracelular para o meio extracelular), enquanto que a bomba do RS bombeia o cálcio do citosol para o interior do retículo. Elas usam a energia libertada na hidrólise do ATP.

ATIVIDADES

Descreva o experimento que descobriu a existência da Bomba de Na^+ e K^+ e que era um transporte dependente de ATP.



COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

O experimento foi realizado por Hodgkin & Keynes (1955) em axônio gigante de lula utilizando íons Na^+ radioativos. A descoberta que era um transporte dependente de ATP surgiu com uso de 2 substâncias: o dinitrofenol (DNP) e o cianeto (CN). Você poderia ler sobre esses experimentos no livro de Biofísica do autor Conde-Garcia, 1998. Nas páginas 10 e 11 você encontrará a descrição do experimento.

CONCLUSÃO

Como vimos no decorrer desta aula a membrana plasmática exerce várias funções importantes para a célula. A membrana é composta por três tipos básicos de moléculas lipídios, proteínas e carboidratos que trabalham de forma integrada mais com funções distintas. Além de separar o citoplasma do meio extracelular, ela funciona como barreira física, e realiza o transporte de solutos através de proteínas transportadoras. Alguns solutos apresentam afinidade com a membrana e são transportados diretamente pela bicamada lipídica. Por ser o componente celular mais externo e possuir proteínas receptoras, a membrana tem a capacidade de reconhecer outras células e diversos tipos de moléculas, tais como drogas e hormônios.



RESUMO

A membrana celular é formada por uma dupla camada de lipídios dispostos com as porções polares voltadas para os meios intra e extracelular e as caudas hidrofóbicas voltadas para o interior da membrana. As proteínas que compõem a membrana são classificadas como integrais, ou seja, atravessam toda a extensão da membrana ou periféricas que são as proteínas localizadas ou na monocamada interna ou externa da membrana. Os carboidratos também são encontrados na membrana especificamente na sua monocamada externa. A membrana é um fluido bidimensional, com assimetria entre as monocamadas internas e externas. São fatores que diminuem a fluidez da membrana: ausência da dupla ligação cis na cauda do fosfolípido, cadeias longas de ácido graxo, presença do colesterol e baixa temperatura. Os lipídios de membrana podem realizar 4 movimentos: flip-flop, difusão lateral, rotação e flexão das caudas. O transporte de pequenos solutos pela membrana pode ser feito de forma passiva (sem gasto de energia) ou de forma ativa (com gasto de energia). Moléculas hidrofóbicas e moléculas hidrofílicas pequenas e sem carga elétrica são transportadas pela membrana por difusão simples, ou seja, diretamente pela bicamada lipídica. Por outro lado, as moléculas hidrofílicas grandes e sem carga elétrica são transportadas por difusão facilitada. Esta difusão pode ser mediada por uma proteína canal ou carreador. Os carreadores são classificados em uniporte, simporte ou antiporte a depender do sentido do transporte e do número de moléculas transportadas. Tanto a difusão simples quanto a facilitada são transportes passivos, ou seja, o soluto é transportado do meio de maior concentração para o de menor concentração. O transporte ativo é mediado por proteínas carreadoras, chamadas de bombas, no qual

o soluto será transportado de um meio de menor concentração para um de maior concentração, com gasto de ATP. A bomba de Na^+/K^+ é uma proteína carreadora que transporta 3 íons Na^+ para o meio extracelular e 2 íons K^+ para o meio intracelular. Com este transporte a bomba cria diferenças de concentração e cargas entre o citosol e o meio extracelular. Além disso, a bomba tem uma importância fundamental no controle hídrico da célula e ajuda a restabelecer as concentrações originais de sódio e potássio após um potencial de ação.

ATIVIDADES

1. Explique 3 fatores que podem aumentar a fluidez da membrana?
2. Descreva os movimentos possíveis realizados pelos lipídios.
3. Qual a diferença principal no transporte realizado por um canal e por um carreador?
4. Descreva o ciclo de bombeamento da bomba de Na^+/K^+ .
5. Como a bomba de Na^+/K^+ controla o volume hídrico da célula?



PRÓXIMA AULA

Agora que você aprendeu a estrutura da membrana plasmática e os principais mecanismos de transporte realizados por ela, vamos estudar, na próxima aula, a formação do potencial de repouso da célula, assim como, o potencial de ação gerado pelas células excitáveis.



REFERÊNCIAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; P. **Biologia Molecular da Célula**, Ed. ArtMed, 2004.
- BERNE, R.M.; Levy, M.N. **Physiology**, 7 ed. Ed. Mosby Year Book, 2008.
- CASSOLA, A.C. **Atualização em fisiologia e fisiopatologia renal**: canais iônicos nas células do epitélio tubular renal. J Bras Nefrol, p. 176-180, 2000.
- COOPER, G.M. The cell. **A molecular approach**. Ed. AMS press, 1997.
- CONDE-GARCIA, E.A.C. **Biofísica**. Ed. Savier, 1998.
- <http://www.biofisica.ufsc.br>
- CONDE-GARCIA-AÑOVEROS, J.; COREY, D.P. **The molecules of mechanosensation**. Annual Review of Neuroscience, p. 567-594, 1997.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiología médica**, 11 ed. Ed. Elsevier, 2006.

http://www.ar.geocities.com/moni2201/membrana_celular.htm

<http://www.biofisica.ufsc.br>

<http://www.ceunes.ufes.br>

<http://www.pharyngula.com/index/science/2004>

http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/membrane_transport/membrane_transport.swf