



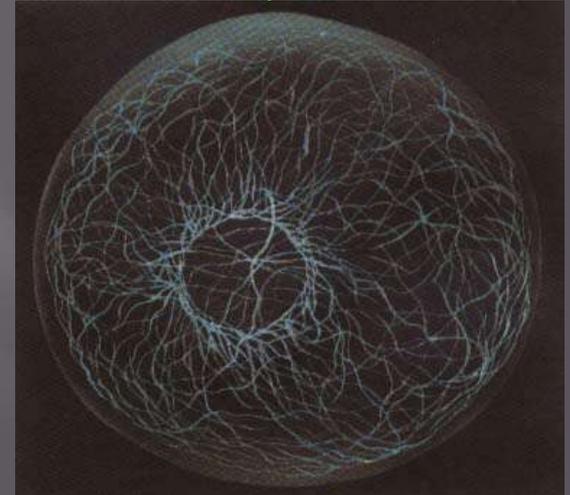
UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – FACS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - DCB
CURSO DE MEDICINA
DISCIPLINA: CITOLOGIA E ORGANIZAÇÃO BIOMOLECULAR

Citoesqueleto:

Modelo de Contração Muscular

Prof. Paula Moreira

- ▣ Constituído por rede de filamentos protéicos, que se prolongam pelo citoplasma de todas as células eucarióticas, gerando rede estrutural que serve de arcabouço p/ célula
- ▣ Define a forma da célula, a organização geral do citoplasma e os movimentos celulares
- ▣ Estrutura dinâmica continuamente reorganizada (divisão celular: transporte de organelas, cromossomos)
- ▣ Composição:
 - Filamentos de actina
 - Filamentos intermediários
 - Microtúbulos
- ▣ Associados entre si e às organelas e à membrana através de proteínas acessórias

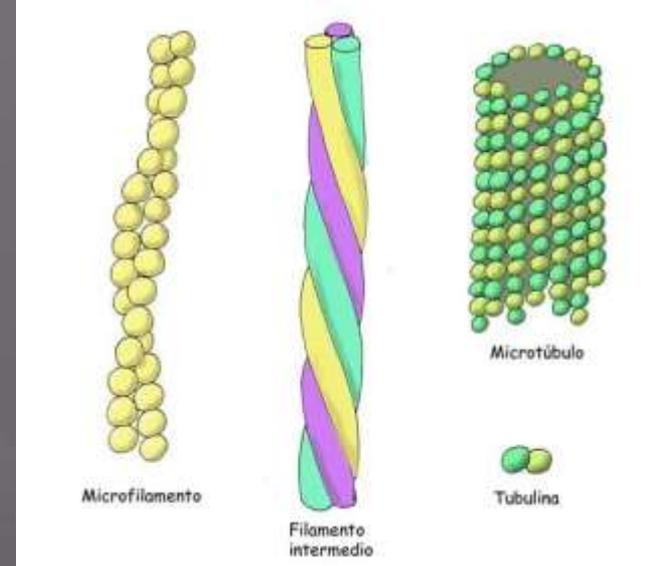


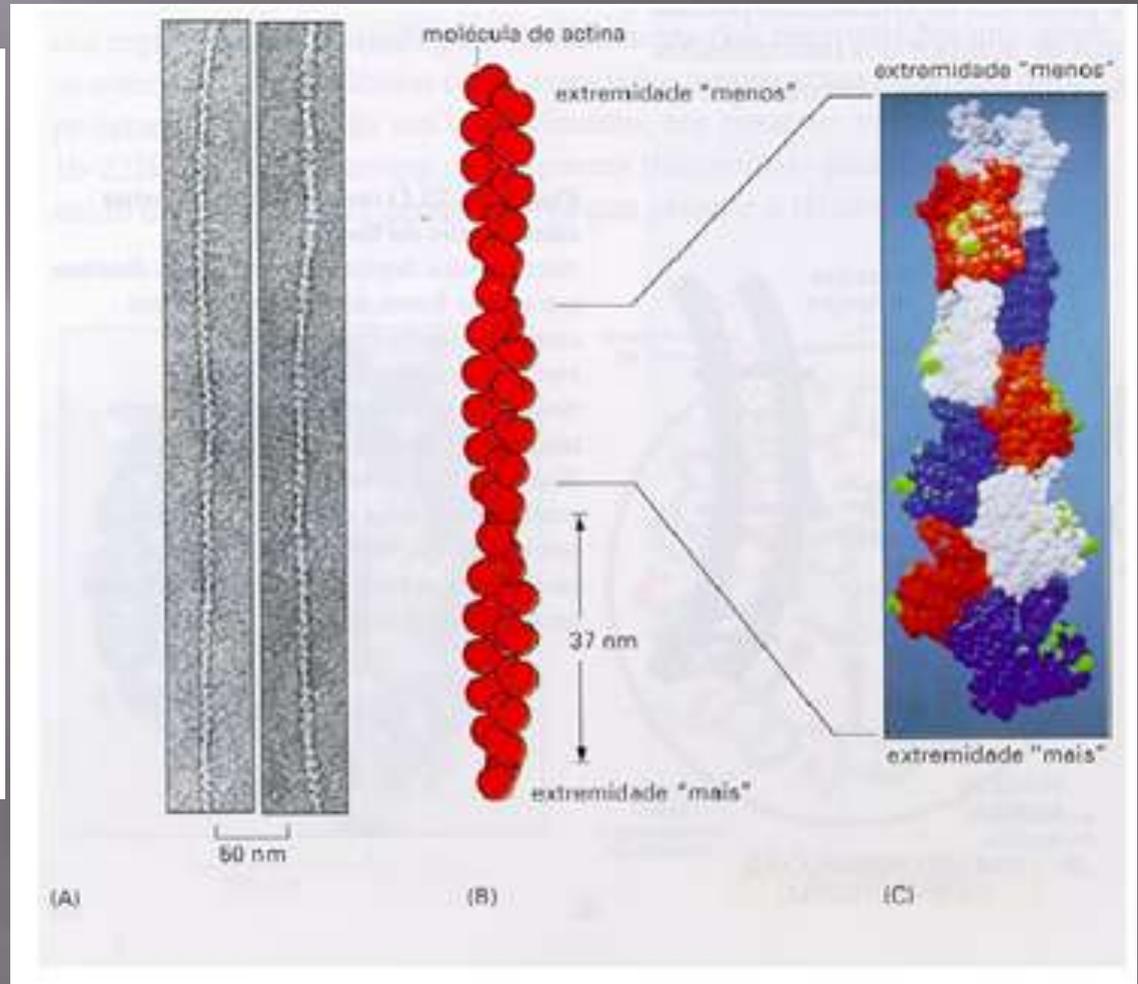
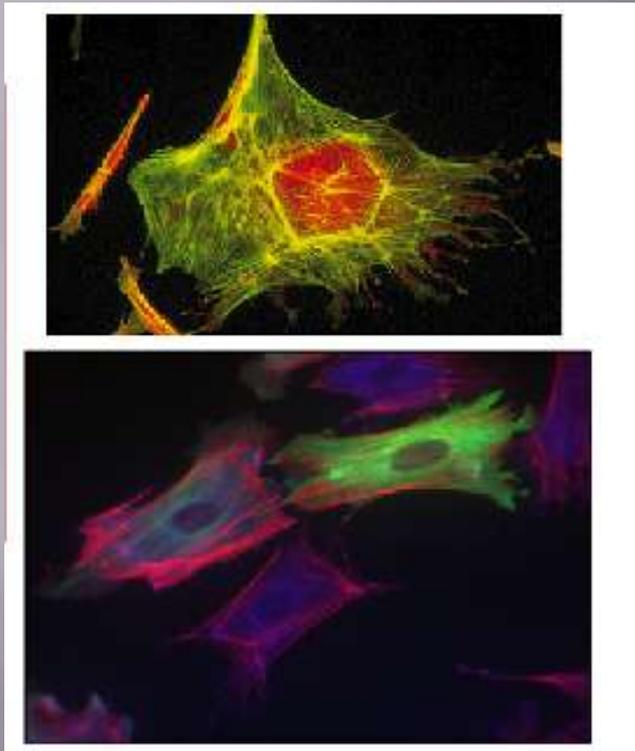
▣ Funções:

- Estrutural (formato da célula e organização geral do citoplasma)
- Responsável pelos movimentos celulares e transporte interno de organelas e outras estruturas (cromossomos mitóticos) através do citoplasma

Estrutura e organização dos filamentos de actina

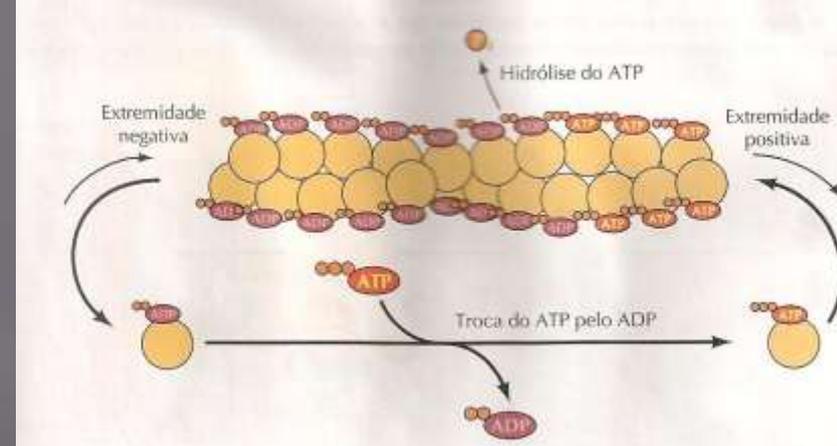
- ▣ Principal proteína do citoesqueleto
- ▣ São proteínas globulares (375 aa)
- ▣ Cada monômero de actina apresentam sítios de ligação que medeiam interações com 2 outros monômeros de actina
- ▣ Os filamentos de actina (microfilamentos) são formados pela polimerização de monômeros de actina em forma de dupla hélice
- ▣ Filamentos finos e flexíveis, orientados na mesma direção com polaridades diferentes (extremidade positiva e extremidade negativa)





- Eucariotos possuem vários tipos de actina
 - 4 genes expressos em células musculares
 - 2 genes expressos em células não musculares

Organização dos filamentos de actina

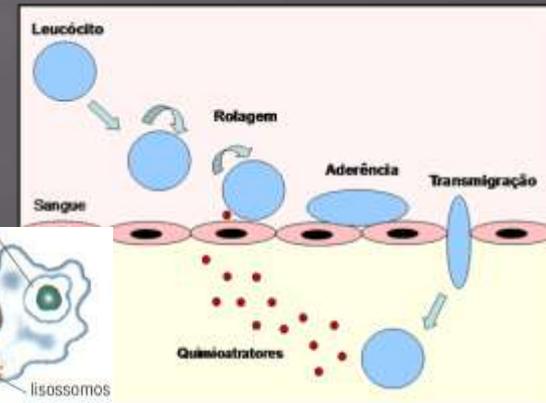
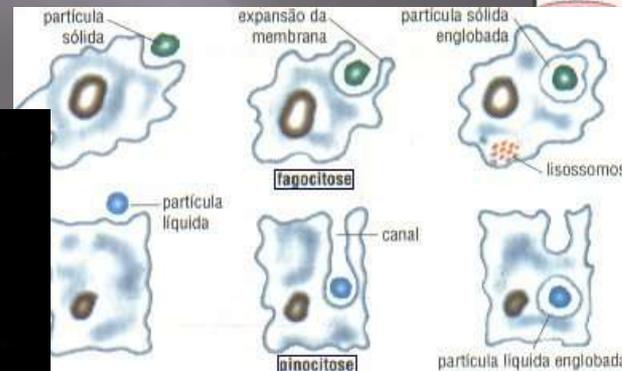
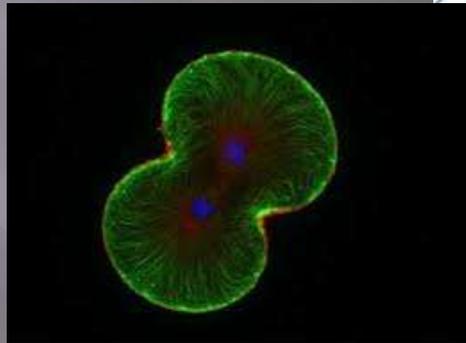


- Arranjados em feixes ou redes tridimensionais que se associam entre si e com estruturas celulares
 - Propriedades de géis semi-sólidos
- Podem crescer, reversivelmente, pela adição de monômeros principalmente na extremidade positiva (polimerização)
- Ligação e hidrólise do ATP é importante na regulação do arranjo e da dinâmica de formação e desorganização dos filamentos de actina, permitindo alteração de forma e movimento
- Monômeros dissociam-se desmontando os filamentos (despolimerização), existindo um equilíbrio aparente

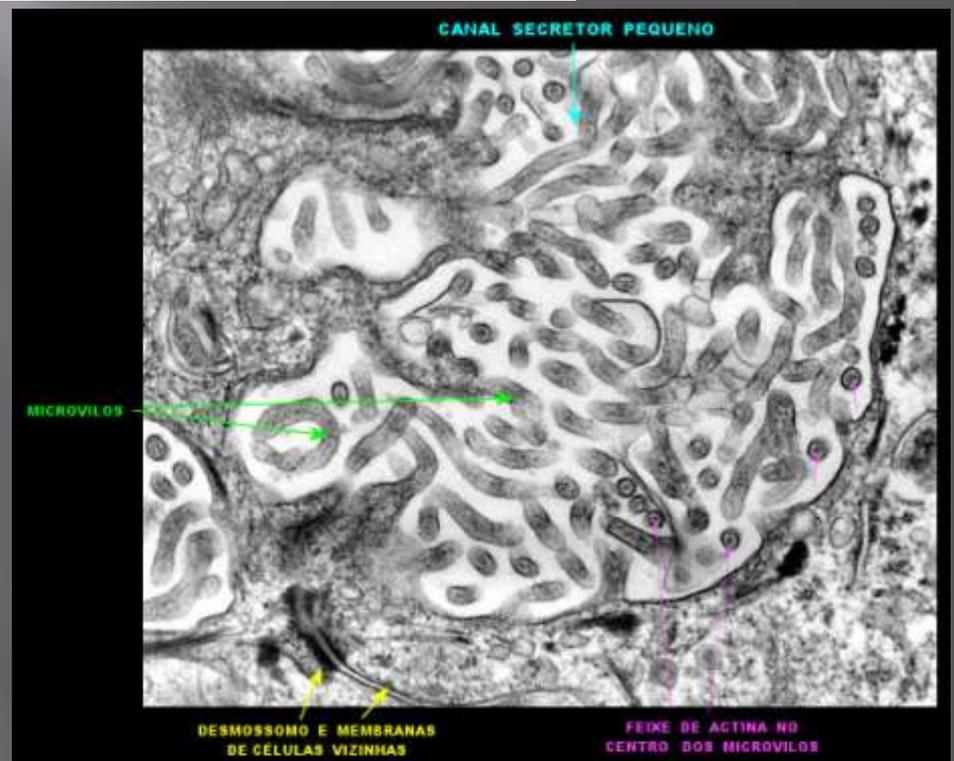
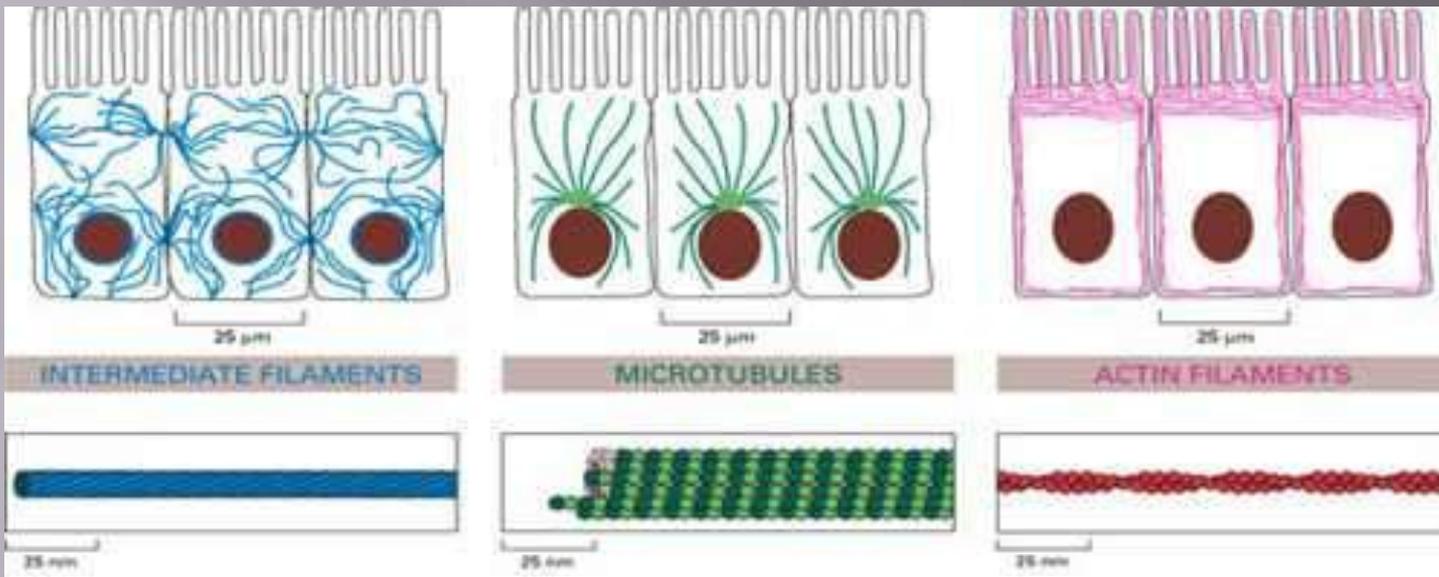
Associação dos filamentos de actina com a membrana plasmática

- A rede de filamentos de actina localiza-se de forma adjacente à membrana plasmática, sendo responsável pelo suporte mecânico que determina a forma celular e possibilita o movimento da superfície celular

- Migração de células
- Internalização de partículas
- Divisão celular

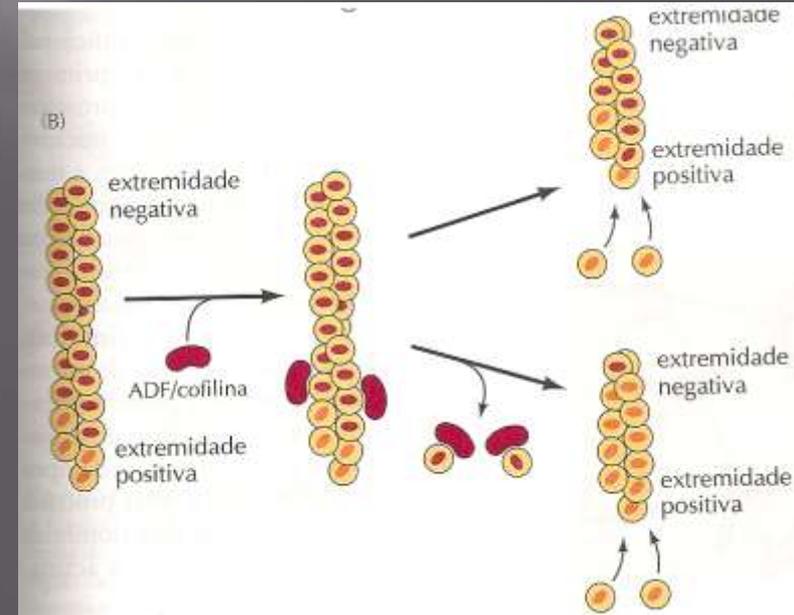
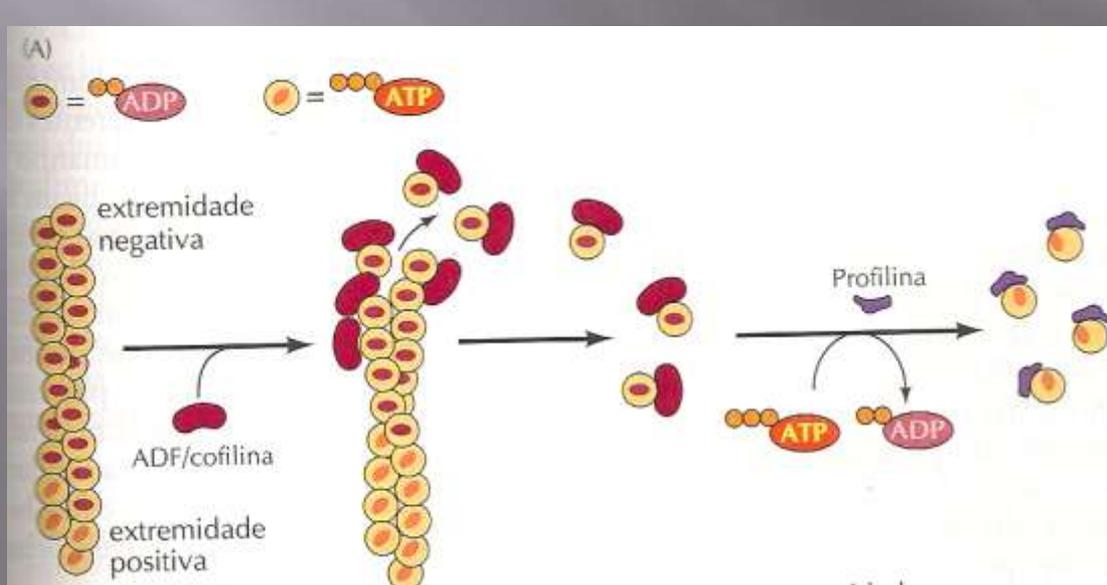


- Os feixes de actina também ficam aderidos à membrana plasmática e ancoram as células nas regiões de contato célula-célula e célula-substrato



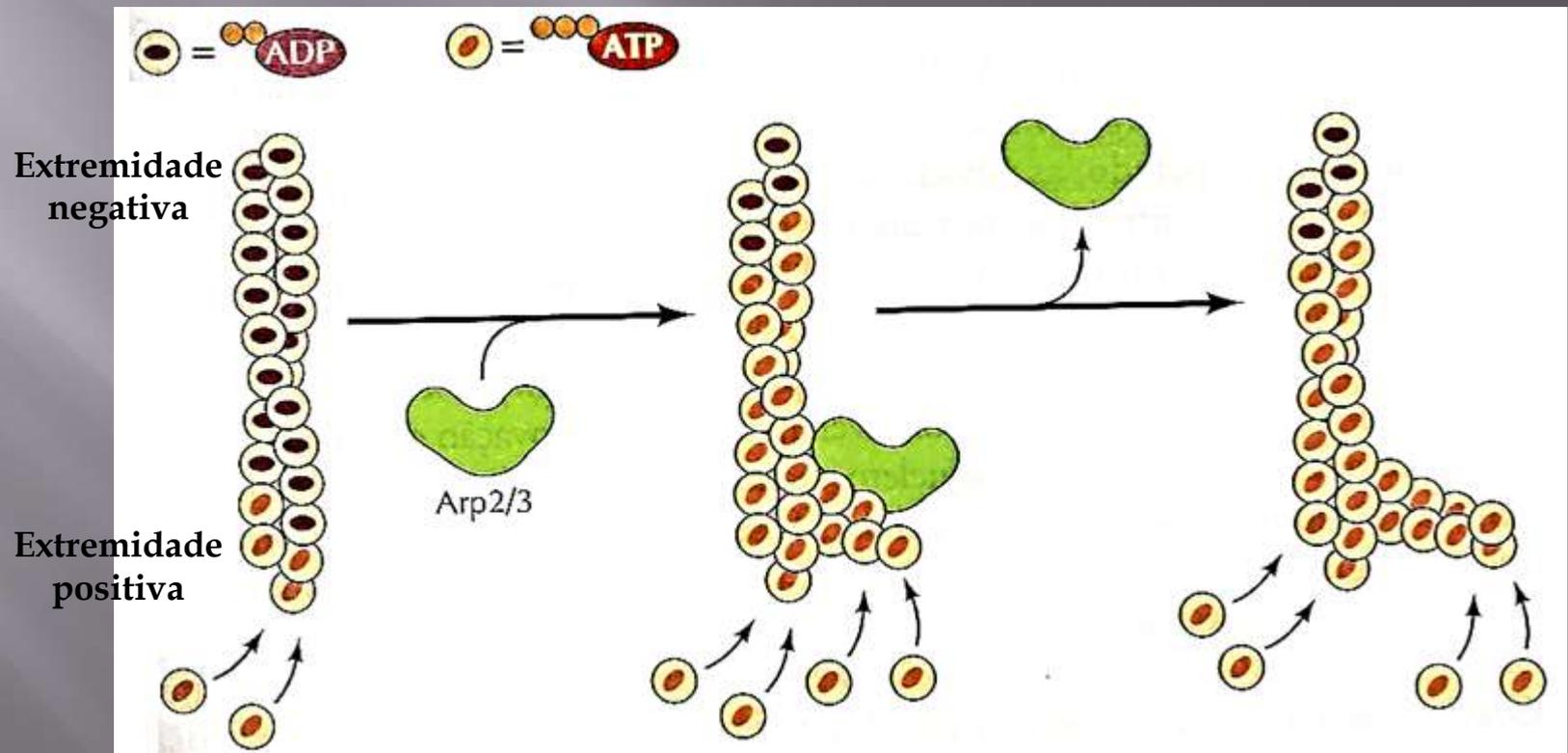
Proteínas de ligação à actina

- Regulam a união e separação (organização e desorganização) dos filamentos de actina em resposta aos estímulos do ambiente (sinalização)
 - Fator ADF/Cofilina:**
 - liga-se aos filamentos de actina e ↑ a taxa de dissociação dos monômeros de actina-ADP a partir da extremidade negativa e mantêm-se ligado à actina-ADP impedindo sua reorganização em filamentos
 - Liga-se aos filamentos e separa-os criando novas extremidades positivas
 - Profilina:** Estimula a troca do ADP por ATP p/ que os monômeros actina-ATP possam ser repolimerizados em filamentos

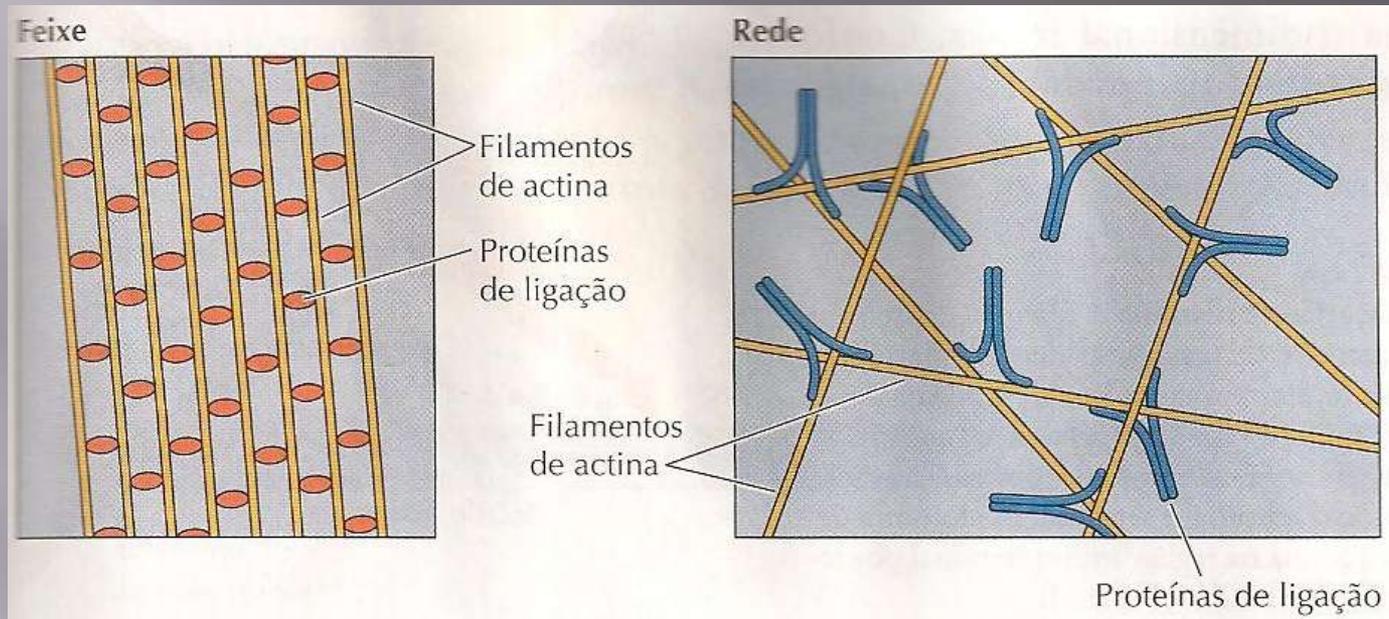


Proteínas de ligação à actina

- Complexo Arp2/3 funcionam como sítios de nucleação para formação de novos filamentos
 - Liga-se a actina-ATP na extremidade positiva de um filamento de actina e induz ramificação



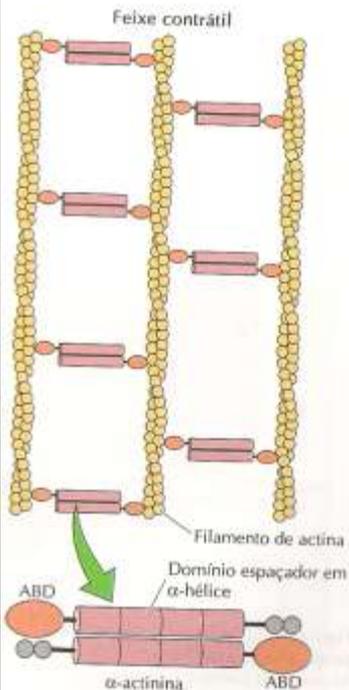
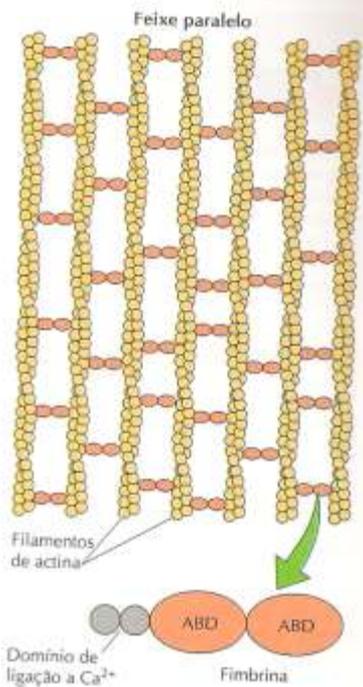
Proteínas de ligação à actina



- Feixes: filamentos agrupados em paralelos
 - Proteínas empacotadoras de actina são pequenas e rígidas e permitem que os filamentos fiquem próximos e alinhados entre si
- Redes: filamentos interligados gerando malha tridimensional
 - Proteínas grandes e flexíveis interligam filamentos perpendiculares

Proteínas de ligação à actina

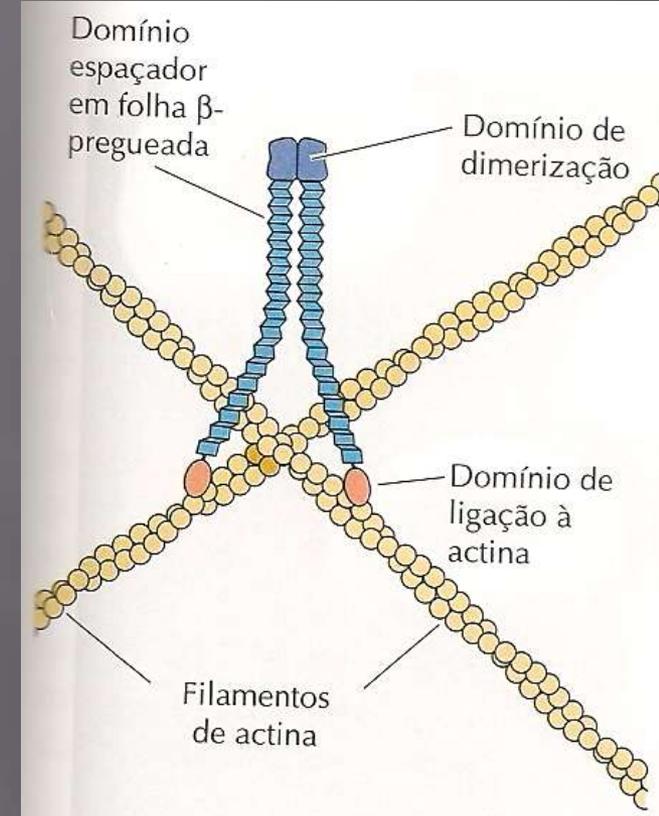
- Proteína **FIMBRINA** em feixes paralelos próximos
 - Suporte às projeções da membrana plasmática (microvilosidades)
 - Extremidades positivas orientadas p/ membrana
- Proteína **α -ACTINA** em feixes contráteis espessos
 - Capaz de realizar contração (anéis contráteis que dividem a célula após mitose)
 - Possibilita a interação da proteína contrátil miosina p/ contração



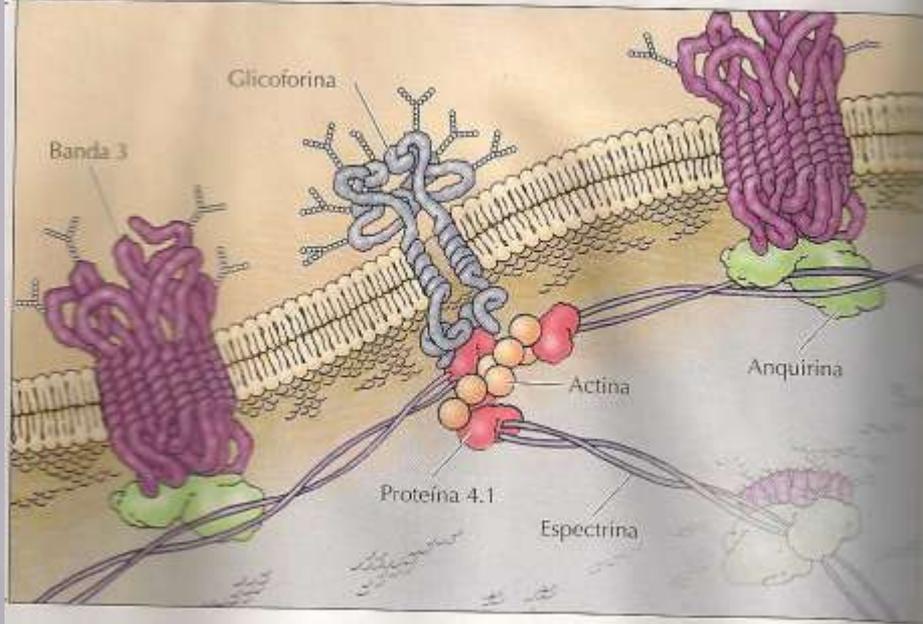
Ambas apresentam 2 domínios de ligação p/ Ca²⁺

Proteínas de ligação à actina

- ▣ Os filamentos de actina em REDE são interligados por grandes proteínas FILAMINA (ABP-280)
 - Domínios de ligação na extremidade de cada braço
 - localizam-se subjacente à membrana plasmática e dão sustentação à superfície das células
 - A forma das hemácias é determinada pelos filamentos de actina (citoesqueleto cortical)



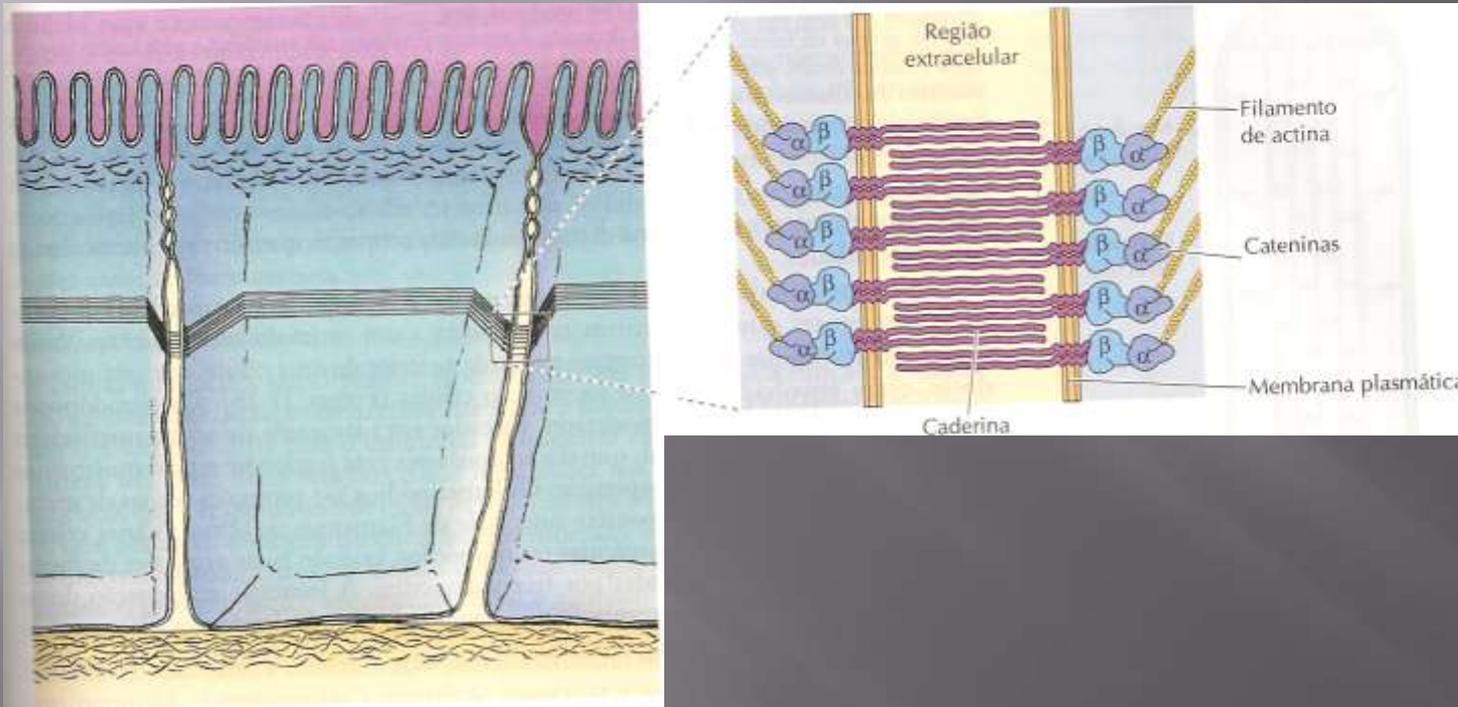
Proteínas de ligação à actina



- ❑ **Integrinas:** ligam filamentos de actina às células adjacentes e aos tecidos na matriz extracelular, formando focos de adesão (fibras de estresse) e fornecendo estabilidade celular durante a contração
 - Aderem fibroblastos à matriz extracelular p/ secreção de proteínas de matriz extracelular
- ❑ **Anquirina:** principal conexão entre filamentos de actina e membrana
 - Liga-se às proteínas espectrina, filamina, distrofina e banda 3 da membrana
- ❑ **Proteína 4.1:** faz ligação adicional
 - Liga-se à glicoforina (proteína transmembrana)

Proteínas de ligação à actina

- ▣ **Caderinas:** ancoram filamentos de actina às membranas plasmáticas vizinhas nas regiões de contato célula-célula (junções de adesão)



Distrofina ausente ou anormal provoca distrofia muscular (degeneração progressiva dos músculos esqueléticos)

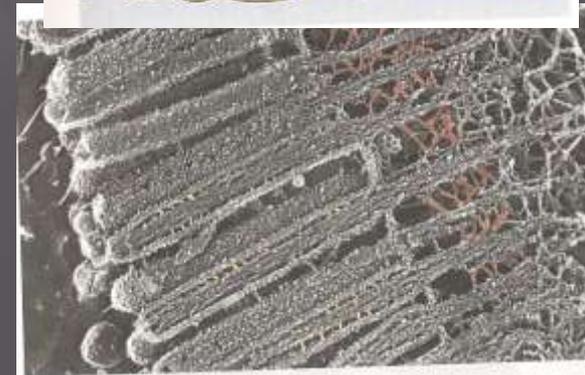
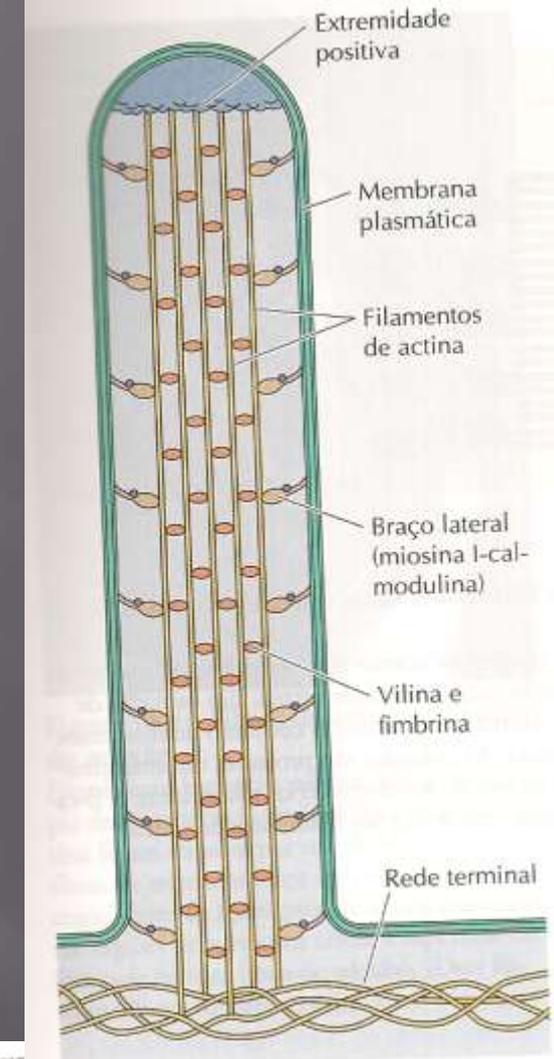
Projeção da superfície celular

▣ Microvilosidades

- Contém feixes próximos e paralelos de filamentos de actina que ancoram as microvilosidades à membrana
- Ex: células epiteliais intestinais e estereocílios de células auditivas

▣ Pseudópodos

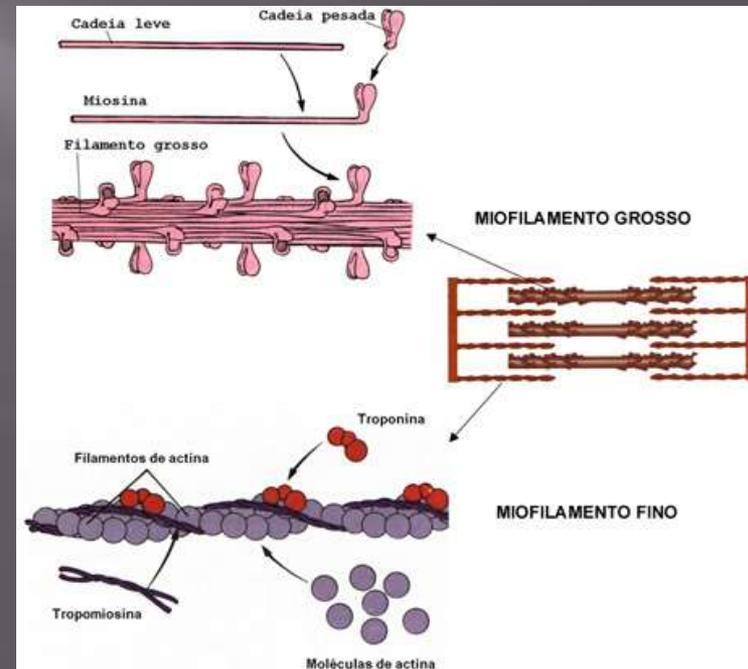
- Estruturas transientes que se formam em resposta a estímulos ambientais – fagocitose ou locomoção celular
- Possibilitam o movimento da superfície celular (migração de células, internalização de partículas e divisão celular)
- Contém filamentos de actina em rede que se arranjam ou desorganizam para formação ou retração destas estruturas



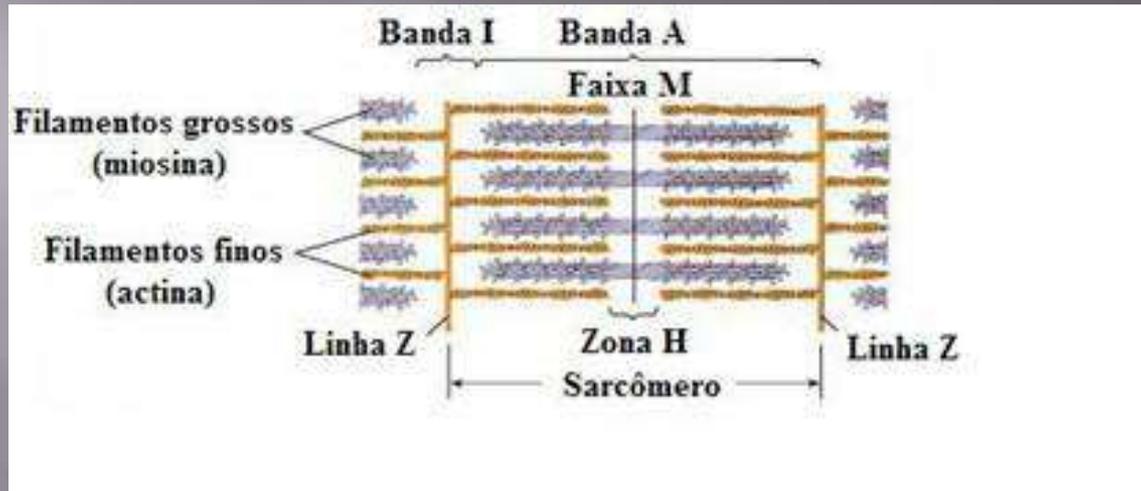
Actina, miosina e movimento celular

- ▣ Células musculares esqueléticas apresentam elementos contráteis do citoesqueleto altamente organizados
- ▣ A caracterização dessas estruturas permitiu compreender o mecanismo da contração muscular
- ▣ Os músculos esqueléticos são feixes de fibras musculares onde o citoplasma é constituído por miofibrilas
 - Feixes de filamentos de actina e miosina organizados em sarcômeros

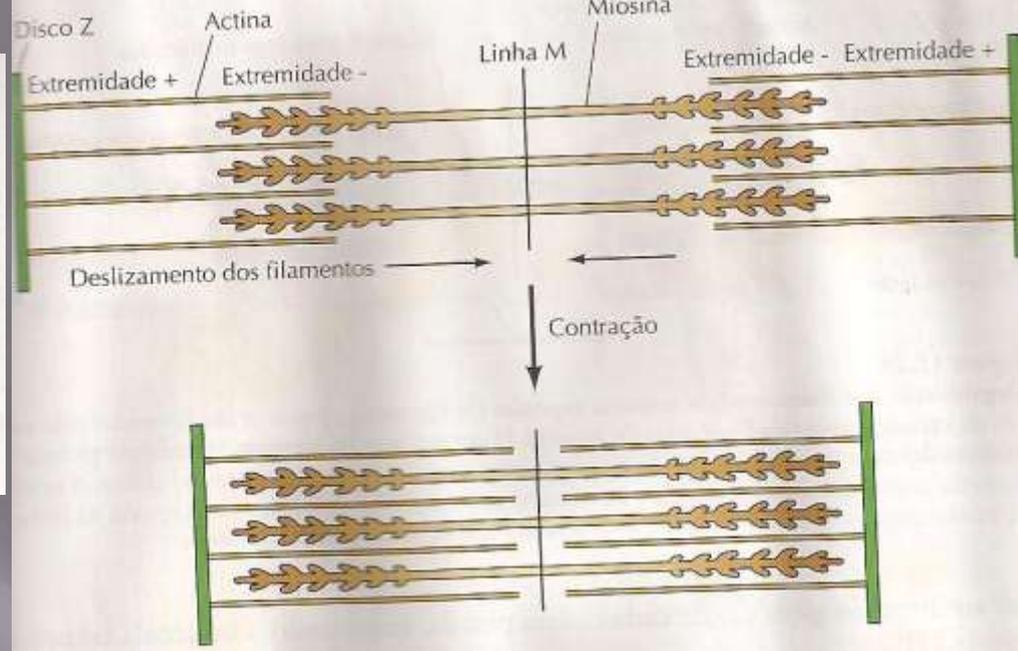
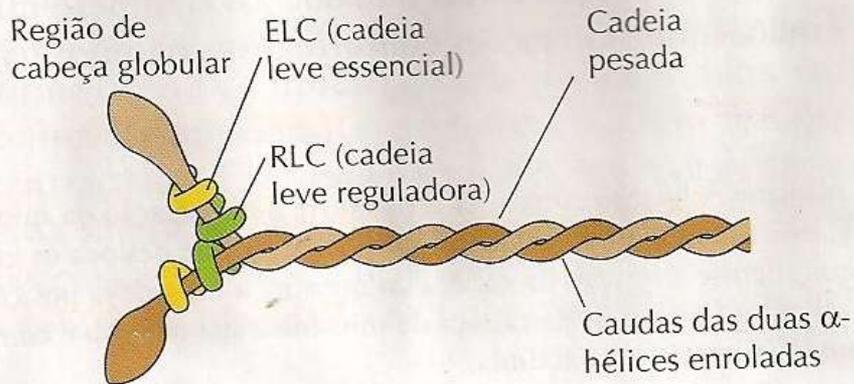
Interações entre actina e miosina também são responsáveis por vários movimentos não-musculares (divisão celular)



Actina, miosina e movimento celular



- Actina ligada ao disco Z
- Miosina ancorada à linha M
- Proteínas adicionais contribuem p/ estruturação e estabilidade do sarcômero
- A contração muscular resulta do deslizamento entre os feixes de actina e os filamentos de miosina aproximando os discos Z
- Miosina: proteína motora que utiliza a energia proveniente da hidrólise do ATP para gerar força e movimento

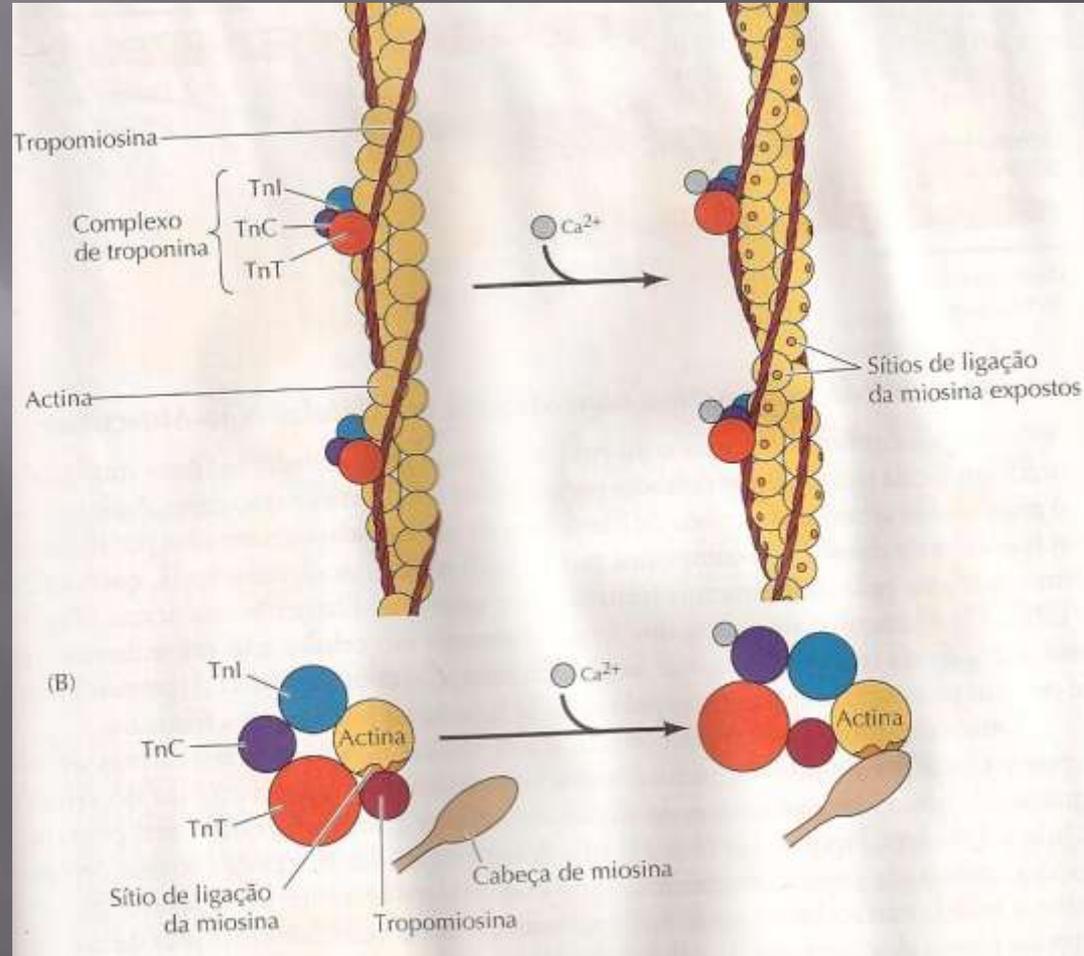


- ▣ Miosina II nos músculos: constituída por 2 cadeias pesadas com uma região globular e cauda longa e 2 cadeias leves
- ▣ Deslizamento dos filamentos de actina em direção ao centro do sarcômero, o qual diminui sem alteração no comprimento dos filamentos

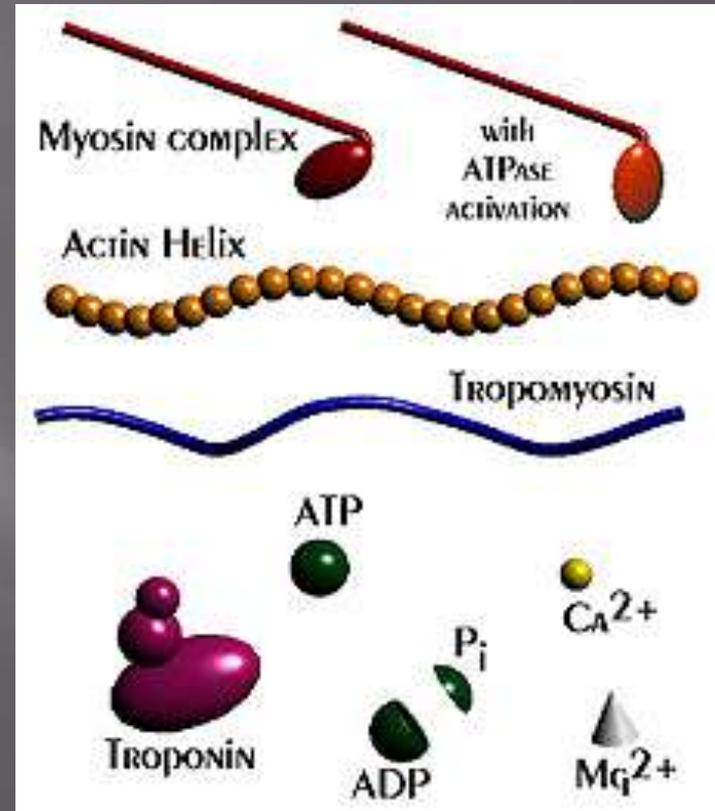
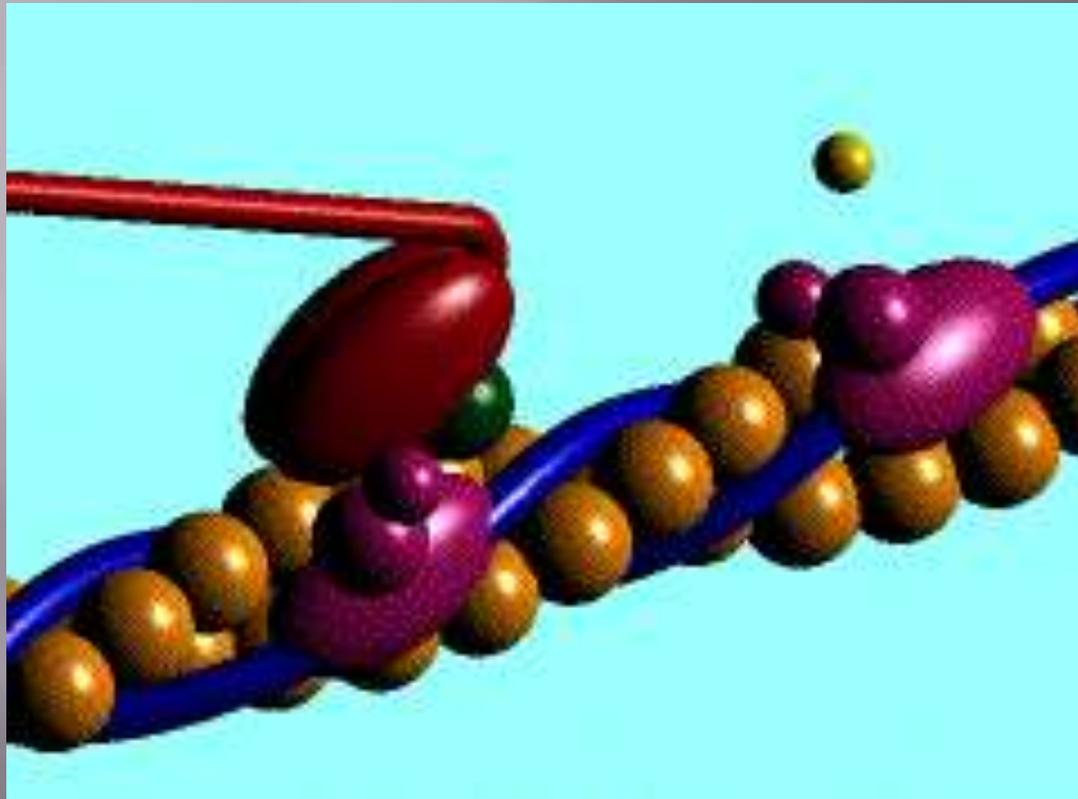
- ▣ Impulsos nervosos estimulam a liberação de cálcio e dirigem a contração do músculo esquelético mediado por proteínas acessórias (troponina e tropomiosina)

MODELO:

- Dissociação do complexo miosina/actina a partir da ligação do ATP no domínio globular da miosina
- Hidrólise do ATP (Mg^{2+}) induz alterações conformacionais na miosina (deslocamento)
- Retorno à posição original libera ADP e P_i que dispara movimento de potência
 - Deslizamento sobre a actina em direção à extremidade positiva
- Ca^{2+} liberado se liga a troponina C e altera o posicionamento do complexo
 - Desloca a troponina inibidora permitindo a contração

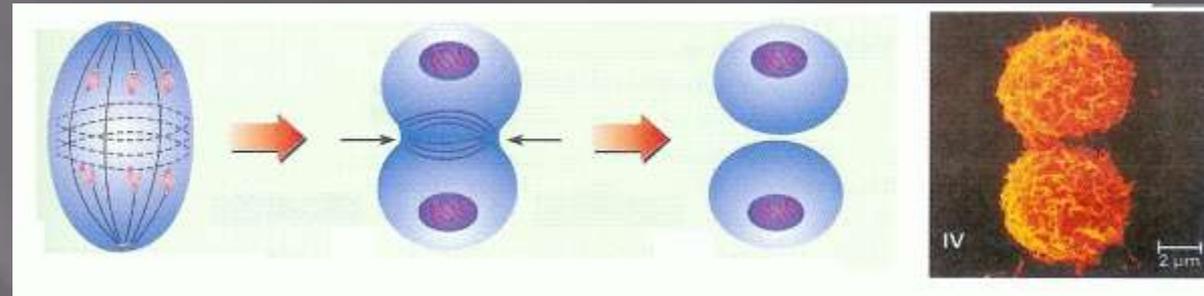
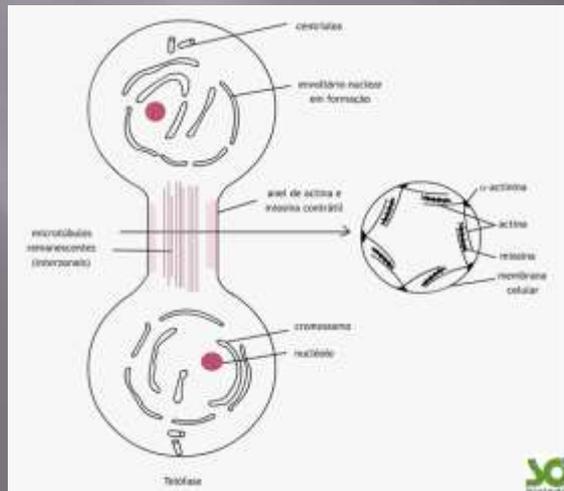


Mecanismo de contração muscular

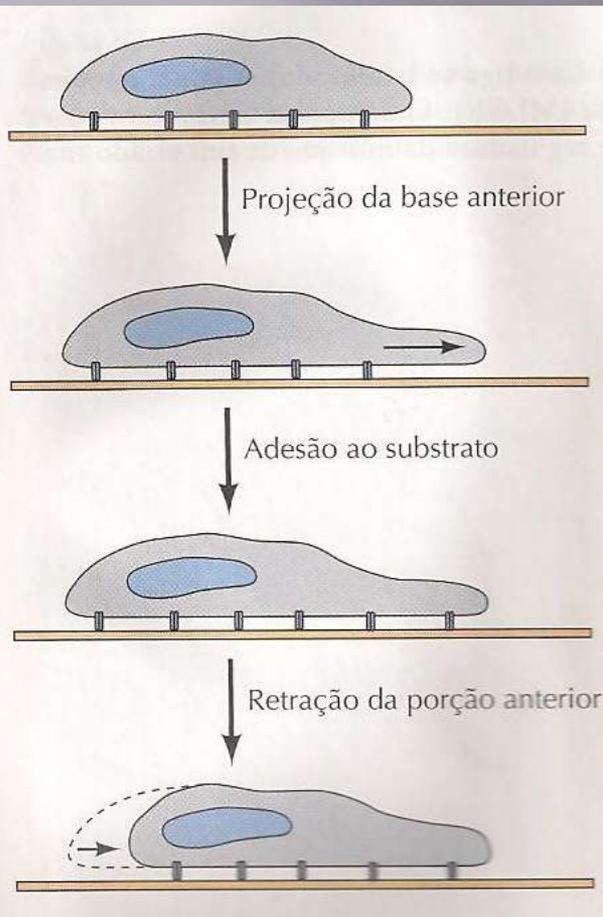


Arranjos contráteis de actina e miosina em células não-musculares

- Os arranjos de actina e miosina II são responsáveis por uma variedade de movimentos em células não-musculares
 - A partir da fosforilação de uma cadeia leve de miosina
 - Ex: formação de um anel contrátil durante a citocinese
 - Anel contrátil de actina e miosina abaixo da membrana plasmática se contrai comprimindo a membrana centralmente
 - Anel desaparece após divisão celular



▣ Deslizamento celular



- O citoesqueleto de actina é responsável pelo deslizamento de células sobre uma superfície
 - ▣ Emissão de projeções a partir da superfície celular (polimerização dos filamentos de actina e interações c/ miosina)
 - ▣ Aderência ao substrato através do qual a célula está migrando
 - ▣ Destacamento da porção posterior da célula em relação ao substrato e retração, juntando-se ao corpo celular
 - ▣ Ex: movimento de amebas, invasão de células sanguíneas em tecidos inflamados, disseminação de células cancerosas durante metástase

Filamentos Intermediários

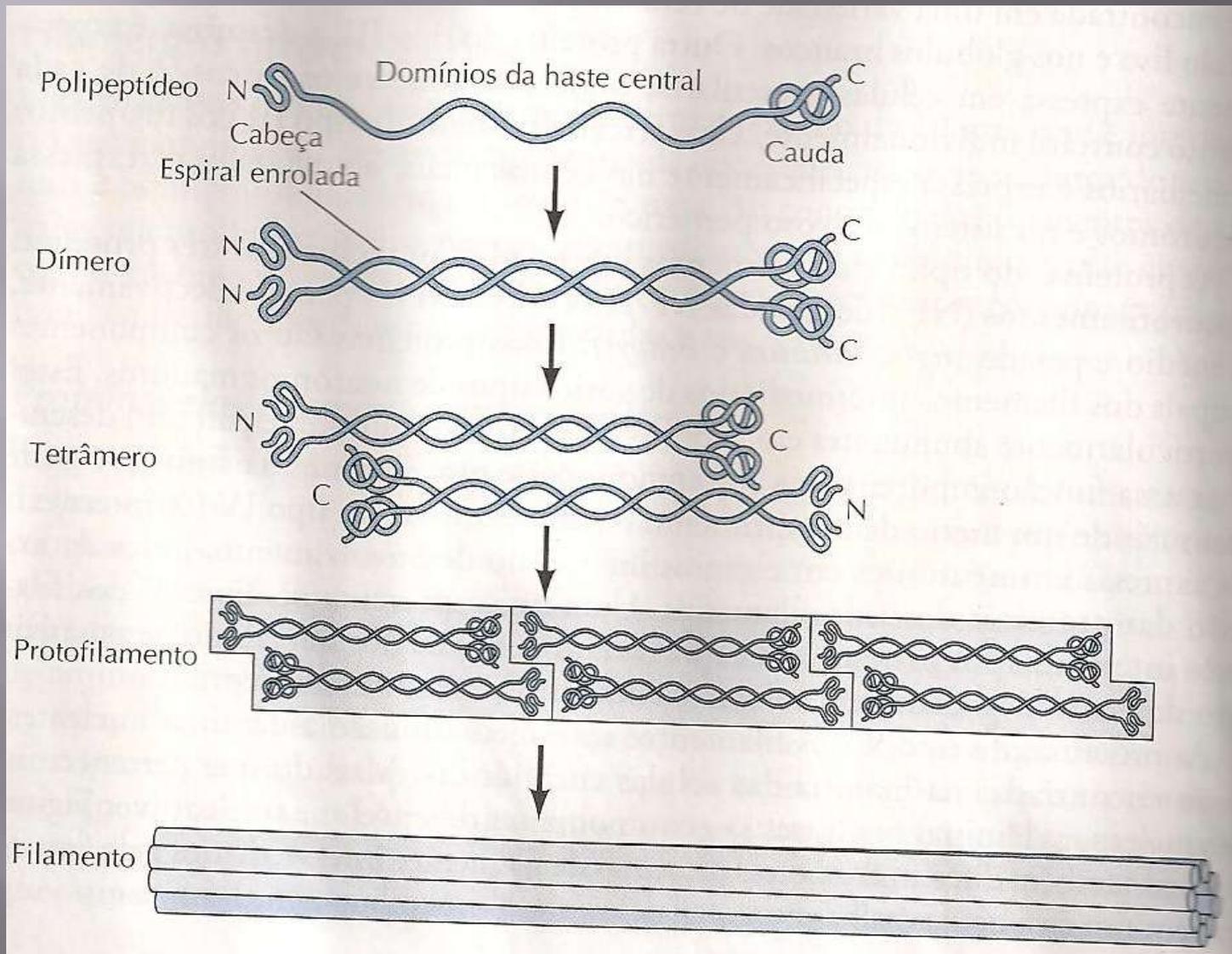
- Não estão diretamente envolvidos com o movimento celular
- Desempenham papel estrutural, conferindo força mecânica às células e aos tecidos
- Proteínas dos filamentos intermediários
 - São polímeros de mais de 50 proteínas diferentes que são expressas em vários tipos de células

TABELA 11.1 Proteínas dos Filamentos Intermediários

Tipo	Proteína	Tamanho (kd)	Local de expressão
I	Queratinas ácidas (- 15 proteínas)	40-60	Células epiteliais
II	Queratinas neutras ou básicas (- 15 proteínas)	50-70	Células epiteliais
III	Vimentina	54	Fibroblastos, glóbulos sangüíneos-brancos, outros tipos celulares
	Desmina	53	Células musculares
	Proteínas ácidas do filamento <u>glial</u>	51	Células gliais
	Periferina	57	Neurônios periféricos
IV	Proteínas dos neurofilamentos		
	NF-L	67	Neurônios
	NF-M	150	Neurônios
	NF-H	200	Neurônios
	α -Internexina	66	Neurônios
V	Lâminas nucleares	60-75	Lâmina nuclear de todo tipo celular
VI	Nestina	200	Células pluripotentes do sistema nervoso central

Arranjo dos filamentos intermediários

- Os filamentos intermediários são formados por dímeros de duas cadeias polipeptídicas envolvidas uma na outra em uma estrutura de espiral enrolada
- Os dímeros associam-se e formam os tetrâmeros, que se arranjam e formam os protofilamentos
- Os filamentos intermediários são formados por protofilamentos e enrolam-se, gerando uma estrutura semelhante a um cabo
- São apolares e estáveis
- Possuem proteínas que quando fosforiladas regulam o arranjo da célula
 - Desaparecimento da membrana nuclear durante mitose



Organização intracelular dos filamentos intermediários

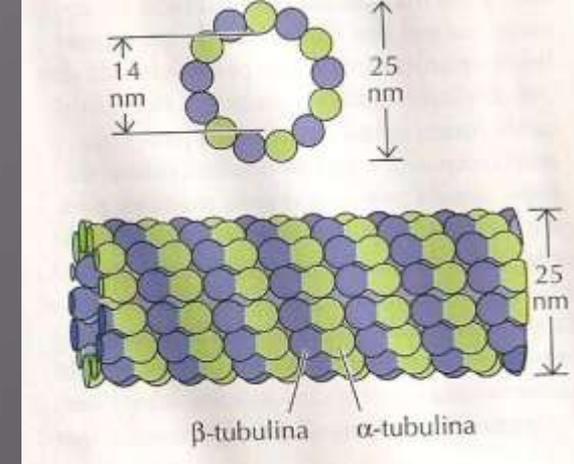
- Os filamentos intermediários formam uma rede que se estende do núcleo à membrana plasmática da maioria das células (epiteliais, musculares e nervosas)
- Organizam a estrutura interna das células através da integração entre membranas e componentes do citoesqueleto (posicionam o núcleo da célula)
- Nas células epiteliais, os filamentos intermediários são ancorados à membrana plasmática em regiões especializadas de contatos celulares (desmossomos e hemidesmossomos)

▣ Funções

- Necessários p/ manutenção da resistência do citoesqueleto das células
 - ▣ Fornece vigor mecânico para as células

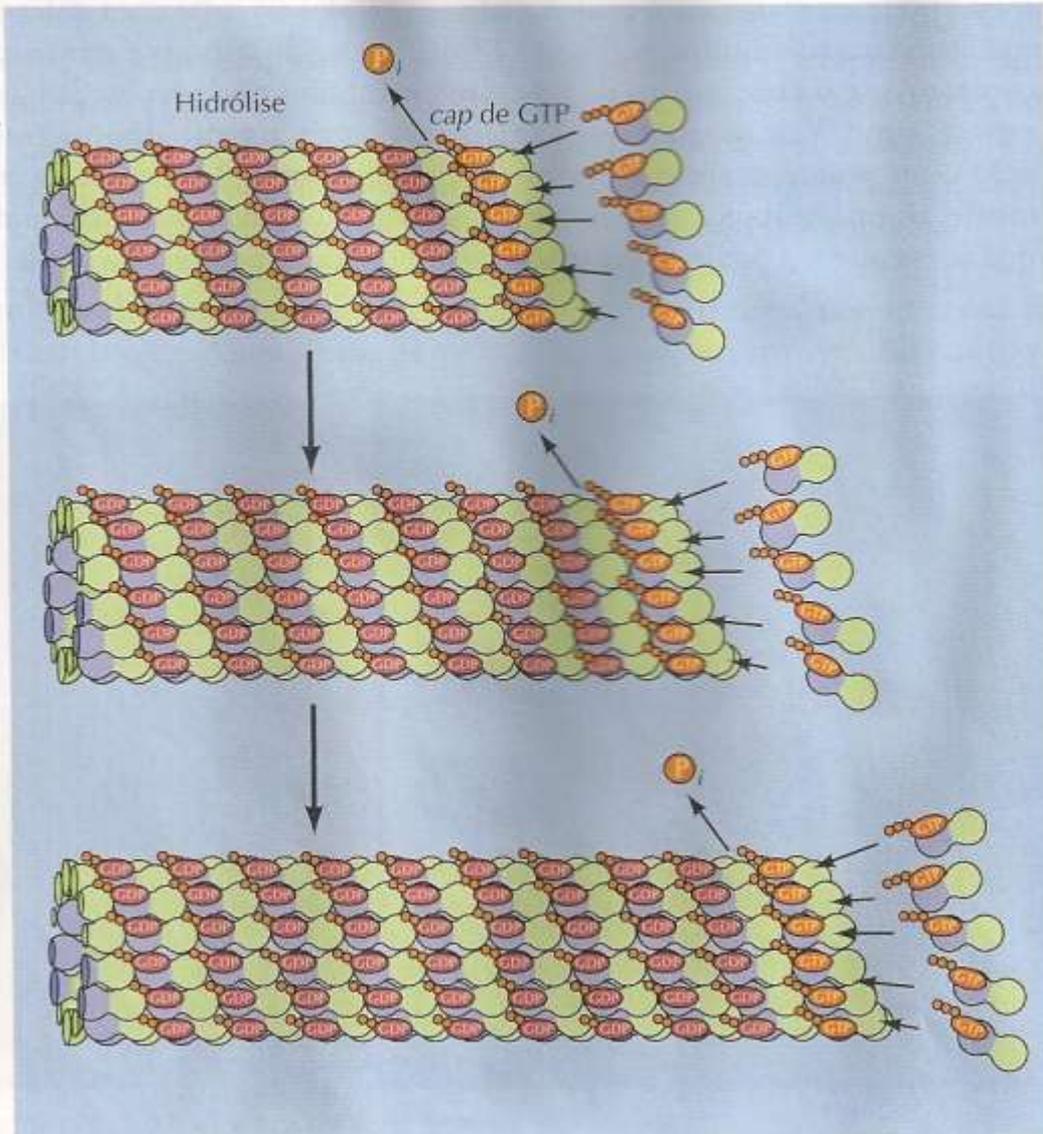
Microtúbulos

Definem a forma celular e são responsáveis por movimentos celulares (locomoção através de cílios e flagelos, transporte e posicionamento de organelas, separação dos cromossomos)

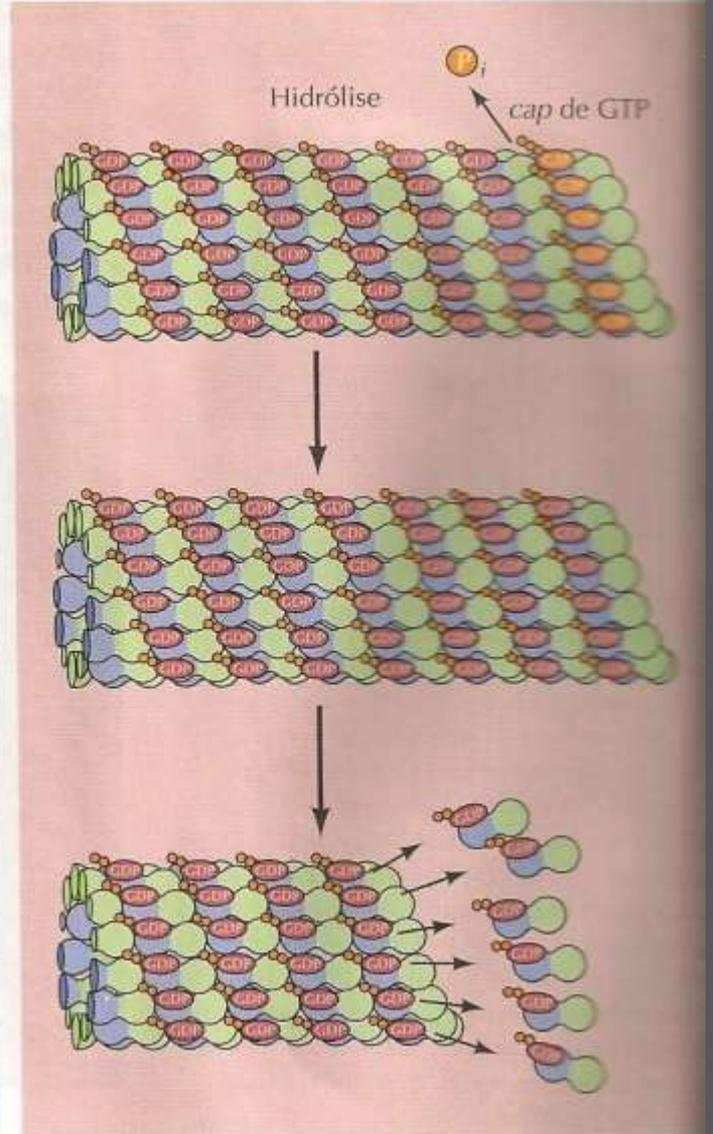


- São formados pela polimerização reversível da tubulina (proteína globular)
 - Dímero de α e β -tubulina
- Constituem-se cilindros ocos que formam estruturas dinâmicas a partir do seu arranjo e desorganização dentro das células
 - Resultado da hidrólise do GTP seguida da polimerização da tubulina
- Polares c/ extremidade positiva de crescimento rápido e negativa de crescimento lento
 - Tubulina-GTP adicionadas + rapidamente - crescimento dos microtúbulos
 - Tubulina-GDP dissociadas + rapidamente - dissociação e encolhimento dos microtúbulos

Altas concentrações de GTP ligada à tubulina



Baixas concentrações de GTP ligada a tubulina



Organização dos microtúbulos

- Os microtúbulos projetam extensões a partir de um centro organizador dos microtúbulos, ou centrossomo (sítio de iniciação), localizado próximo ao núcleo
- Nas células animais, o centrossomo usualmente contém um par de centríolos circundado por material pericentriolar

Figura 11.40

Crescimento dos microtúbulos a partir do centrossomo. Os microtúbulos em fibroblastos de camundongos são visualizados por microscopia de imunofluorescência com anticorpos contra tubulina. (A) A distribuição dos microtúbulos em uma célula normal em interfase. (B) Esta célula foi tratada com colcemida durante uma hora para dissociar os microtúbulos. A droga foi então removida e foram dados 30 minutos para a célula recuperar-se, possibilitando a visualização do crescimento de novos microtúbulos a partir do centrossomo. (De M. Osborn e K. Weber, 1976. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73:867.)

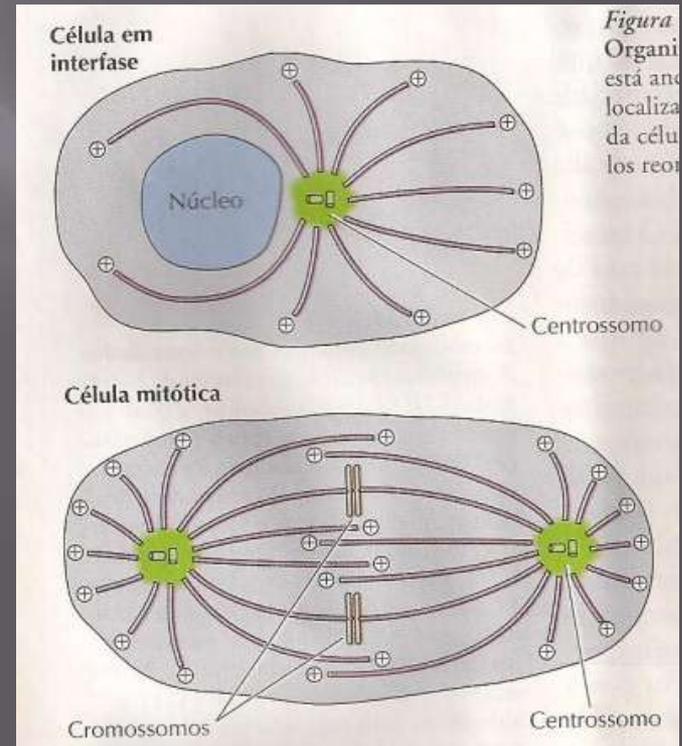
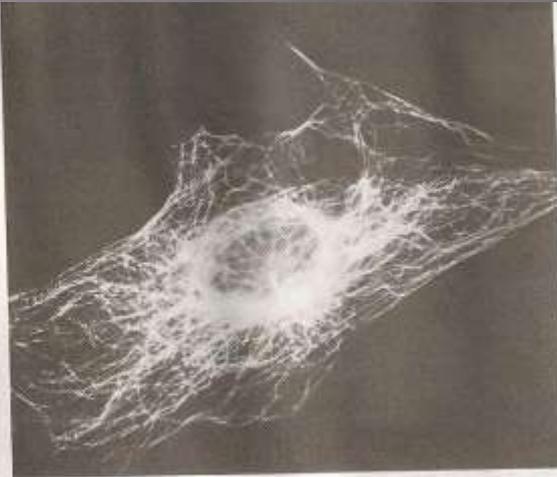


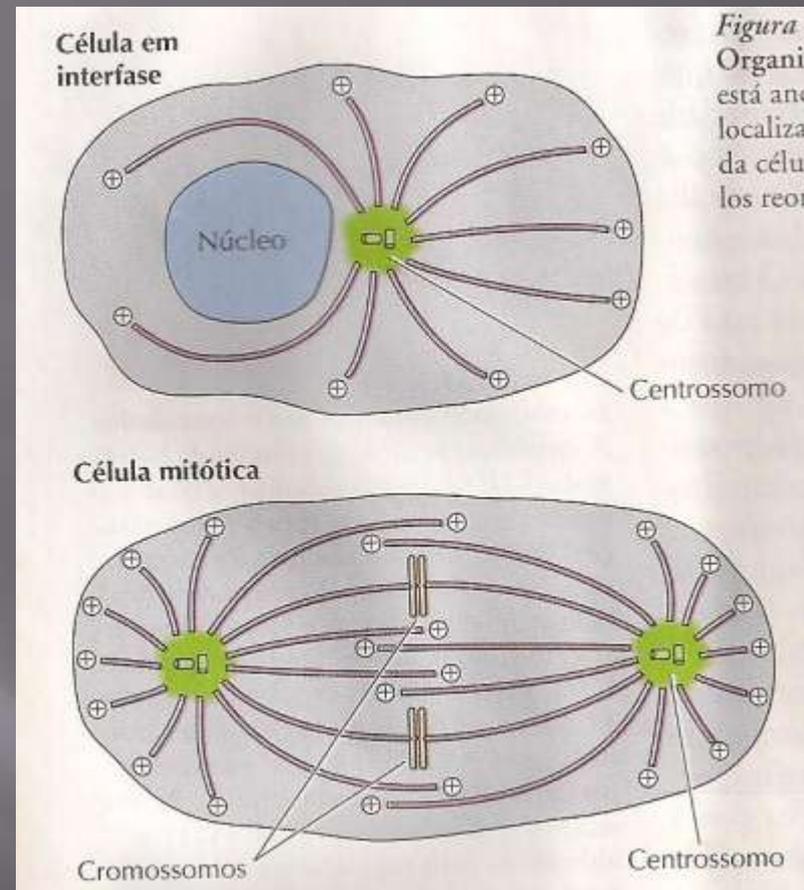
Figura 11.41
Organização dos microtúbulos em uma célula animal localizada no polo da célula. Os reos

Estabilização dos microtúbulos e polaridade celular

- A estabilidade seletiva dos microtúbulos é dada pelas proteínas associadas aos microtúbulos (MAPs)
 - Microtúbulos que sustentam axônios e dendritos estão organizados diferentemente e associados com distintas MAPs

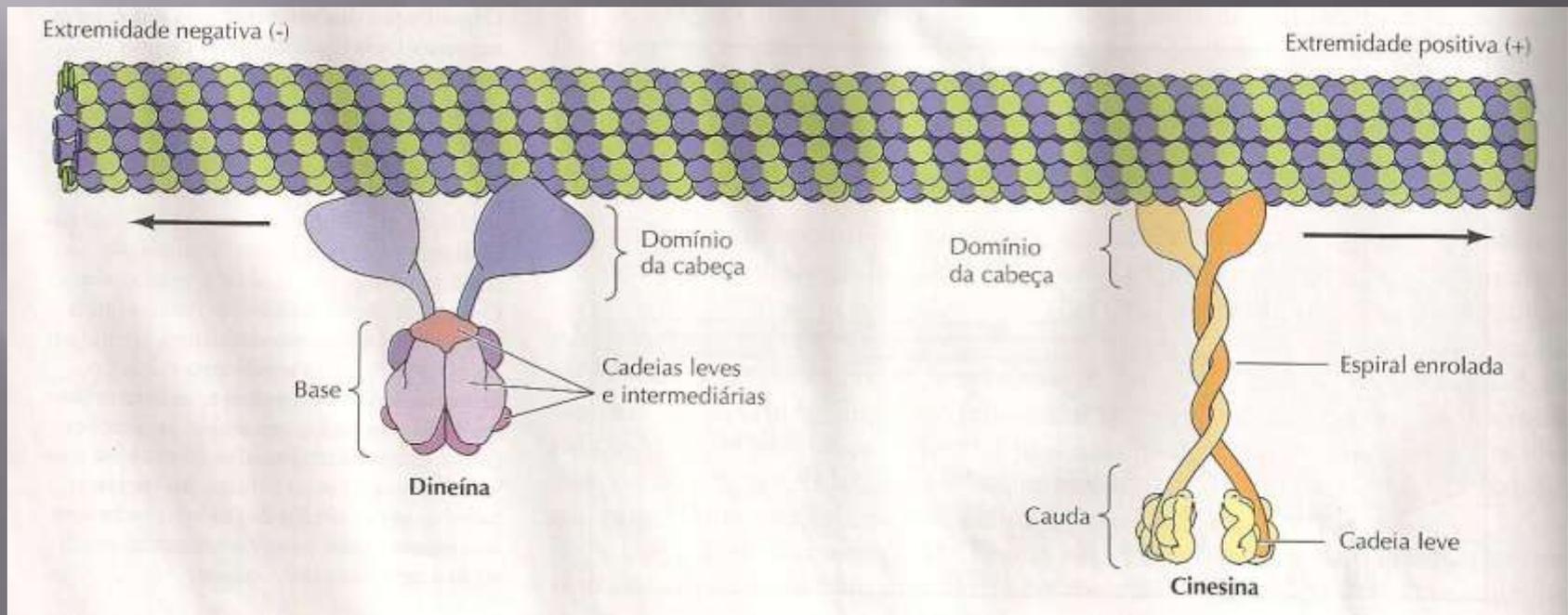
Reorganização dos microtúbulos durante a mitose

- Os microtúbulos são reorganizados no início da mitose para formar o fuso mitótico, que é responsável pela separação dos cromossomos
 - Mediado por proteínas motoras associadas
- Vincristina e vimblastina são drogas usadas na terapia contra o câncer por bloquearem ou estabilizarem seletivamente as divisões celulares mitóticas (ligam-se à tubulina e inibem a polimerização dos microtúbulos)



Microtúbulos motores e movimentos

- Duas famílias de proteínas motoras, as cinesinas e as dineínas, são responsáveis pelo movimento através dos microtúbulos (ligação ao ATP)
 - **Cinesinas** movem-se em direção à extremidade positiva (transportam vesículas e organelas)
 - **Dineínas** movem-se através dos microtúbulos em direção à terminação negativa

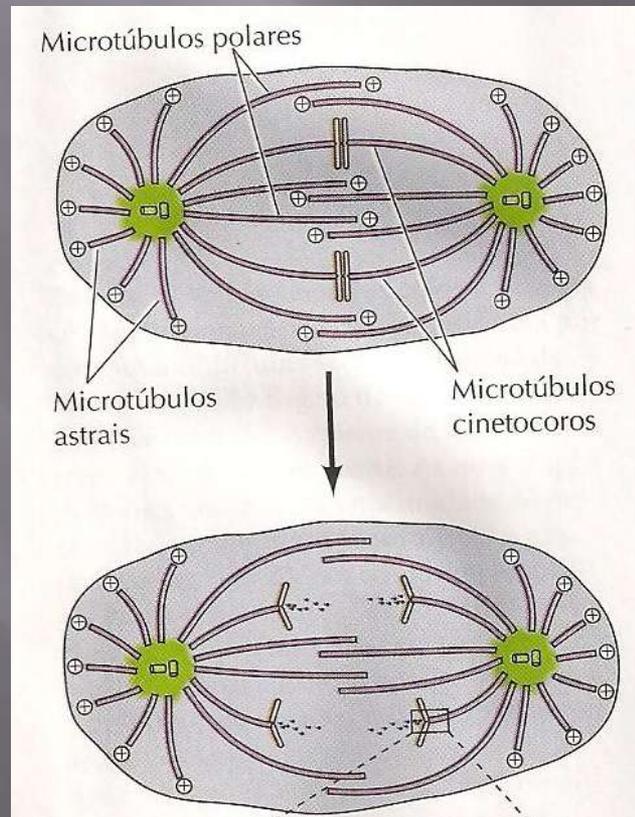


Transporte de organelas e organização intracelular

- Movimentos ao longo dos microtúbulos transportam vesículas e organelas através do citoplasma, assim como posicionam as organelas dentro das células
- Cinesinas:
 - Posicionam o RE através dos microtúbulos em direção à periferia da célula
 - Transportam vesículas contendo neurotransmissores do complexo de golgi p/ porção terminal do axônio
 - Posicionam lisossomos p/ fora do centro celular e movimentam mitocôndrias
- Dineínas:
 - Transportam vesículas de endocitose do axônio ao corpo celular
 - Posicionamento do complexo de golgi

Separação dos cromossomos mitóticos

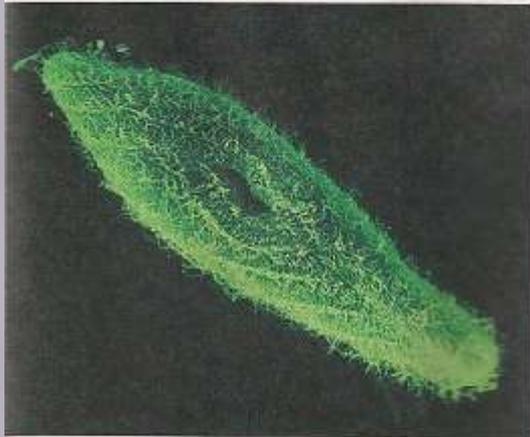
- Durante a anáfase da mitose, cromossomos-filhos são separados e movem-se para pólos opostos do fuso mitótico
- A separação dos cromossomos resulta de uma série de tipos de movimentos, dos quais diferentes classes de feixes de microtúbulos e proteínas motoras participam



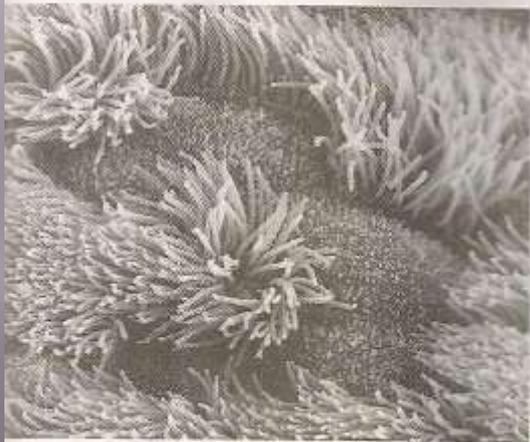
Cílios e flagelos

- São projeções de membranas plasmáticas constituídas por microtúbulos e proteínas associadas
- Responsáveis por uma variedade de movimentos das células eucarióticas
- Seus movimentos resultam do deslizamento dos microtúbulos, orientados pela ação de dineínas motoras
- **CÍLIOS:**
 - Batem em movimento de vaivém coordenado, movimentando células através de fluidos e fluidos sobre a superfície da célula
 - Ex: remover muco e poeira da superfície de células epiteliais do trato respiratório
- **FLAGELOS:**
 - Comprimento maior que os cílios com movimentos ondulatórios onde 1 ou 2 flagelos são responsáveis pela locomoção de protozoários e espermatozóides

A)

20 μm

B)

5 μm

C)

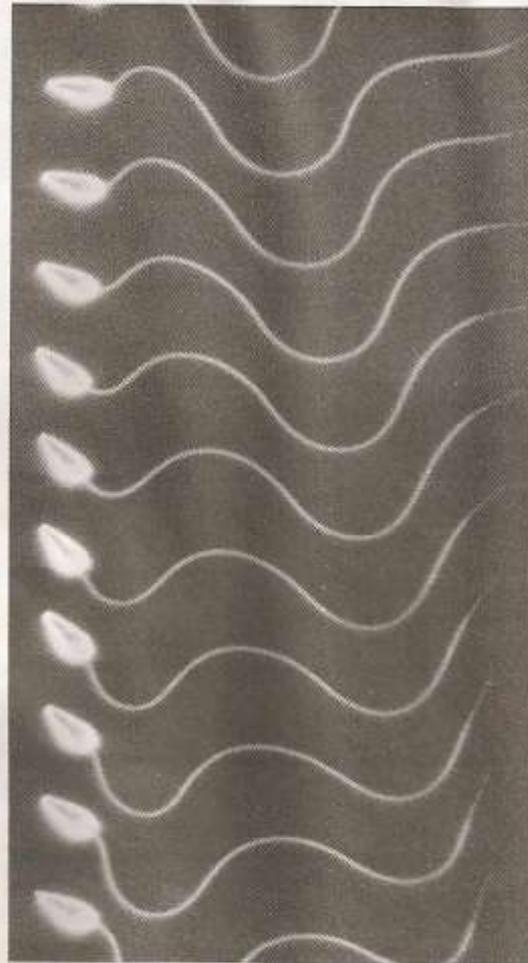
10 μm

Figura 11.50

Exemplos de cílios e flagelos (A) Micrografia eletrônica de varredura mostrando numerosos cílios cobrindo a superfície de um *Paramecium*. (B) Micrografia eletrônica de varredura da superfície de células epiteliais ciliadas da superfície de traquéia. (C) Fotografia em iluminação estroboscópica (500 cintilações por segundo) do movimento do flagelo de um espermatozóide de ouriço do mar exibindo movimento ondulatório. (A, Karl Aufderheide/Visuals Unlimited; B, Fred E. Hossler/Visuals Unlimited; C, C.J. Brokaw, California Institute of Technology.)

Figura 11.51