

EXERCÍCIOS, AULA 8, LIPÍDIOS

- 1) O que é concentração micelar crítica? Por que forma e volume de lipídios afetam o tipo de estrutura (micela ou bicamada) formada em solução aquosa? (ver item A do texto abaixo).
- 2) Quais são as semelhanças e diferenças entre os glicerofosfolipídios e esfingolipídios? Compare a arquitetura geral destas moléculas com o colesterol.
- 3) Uma hipótese central na pesquisa de membranas é que os lipídios da membrana devem ser fluídos (em oposição a "congelados") a fim de que a membrana possa desempenhar suas funções. O apoio para esta hipótese é fornecido pela observação de que a composição de ácido graxo das membranas pode ser alterada pelas condições nas quais a bactéria cresce. Por exemplo, se a bactéria está crescendo em temperatura menor que a normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados (relativas ao conteúdo de ácido graxo saturado) estão acima do normal.
Contrariamente, se a bactéria está crescendo em temperatura acima da normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados nos lipídios da membrana (relativas aos ácidos graxos saturados) estão abaixo do normal.
 - a) Sugira razões para o fato de que o conteúdo lipídico na membrana bacteriana deve ser fluido para que a membrana intacta opere apropriadamente.
 - b) Explique como a alteração observada nos níveis dos ácidos graxos insaturados relativa aos níveis dos ácidos graxos saturados, em diferentes temperaturas de crescimento, apóia a hipótese da fluidez da membrana.
- 4) Descreva os mecanismos pelos quais detergentes extraem proteínas integrais de membrana, mantendo-as em solução.
- 5) Explique porque soda funciona bem para desentupir pias entupidas com gordura animal.

Atividade para estudo direcionado (não precisa entregar, mas por favor leia)

LÍPIDEOS, MEMBRANA & TRANSPORTE

A. Moléculas anfifílicas, como lipídios com uma única cauda hidrofóbica, ácidos graxos livres e detergentes, quando em solução aquosa e acima de um limiar de concentração (**concentração micelar crítica ou cmc**) formam agregados globulares chamados micelas. CMC é a menor concentração onde ocorre a formação de micelas de um

surfactante. O aumento da concentração de surfactante após este ponto tem pouco efeito na tensão superficial da solução na qual o surfactante está presente.

A adsorção do surfactante na superfície (interface líquido/ar) depende da concentração do mesmo na solução. Em baixas concentrações, as moléculas do surfactante se distribuem na superfície, ficando paralelamente orientadas. Com o aumento da concentração de surfactante, diminui a área disponível em relação ao número de moléculas e, conseqüentemente, tem início uma ligeira ordenação das mesmas em relação à superfície. A orientação vai depender da natureza da superfície se hidrofílica ou hidrofóbica. Em alta concentração há formação de uma camada unidirecional; esta concentração é conhecida como concentração micelar crítica (CMC)

Quando os surfactantes estão presentes acima da CMC, eles podem atuar como emulsificantes que permitirão a dissolução de um composto normalmente insolúvel (no solvente utilizado). Isso ocorre porque as espécies insolúveis podem ser incorporadas ao núcleo da micela, que é solubilizada no solvente a granel em virtude das interações favoráveis dos grupos principais com as espécies de solventes. O exemplo mais comum desse fenômeno são os detergentes, que limpam material lipofílico pouco solúvel (como óleos e ceras) que não podem ser removidos apenas pela água. Os detergentes limpam também diminuindo a tensão superficial da água, facilitando a remoção do material da superfície.

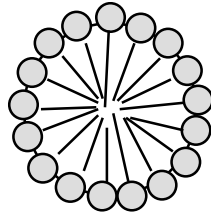
Micela é uma estrutura globular formada por um agregado de moléculas anfipáticas, ou seja, compostos que possuem características polares e apolares simultaneamente, dispersos em um líquido constituindo uma das fases de um coloide. As micelas são geralmente globulares, contudo, estas estruturas podem ser elipsoides, cilíndricas e em camadas. O formato e o tamanho destas é função da geometria molecular dos surfactantes bem como das condições da solução, tais como: concentração, temperatura, pH e força iônica. Esta geometria molecular possui uma relação matemática que pode indicar a forma que a micela irá assumir, nesta relação três parâmetros são considerados, o primeiro é o comprimento da cadeia carbônica da molécula anfifílica (c), o segundo é a área da cabeça e finalmente (a) o volume da calda de hidrocarbonetos (v). Esta relação é dada por:

$v/(c \cdot a) \leq 1/3$ para micelas esféricas

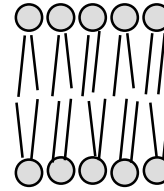
$1/3 \leq v/(c \cdot a) \leq 1/2$ para micelas cilíndricas

$v/(c \cdot a) \geq 1/2$ para bicamada

B. Por outro lado, lipídios com duas caudas hidrofóbicas, como glicerofosfolipídios e esfingolipídios, tendem a formar bicamadas lipídicas, que são a base estrutural das membranas biológicas.

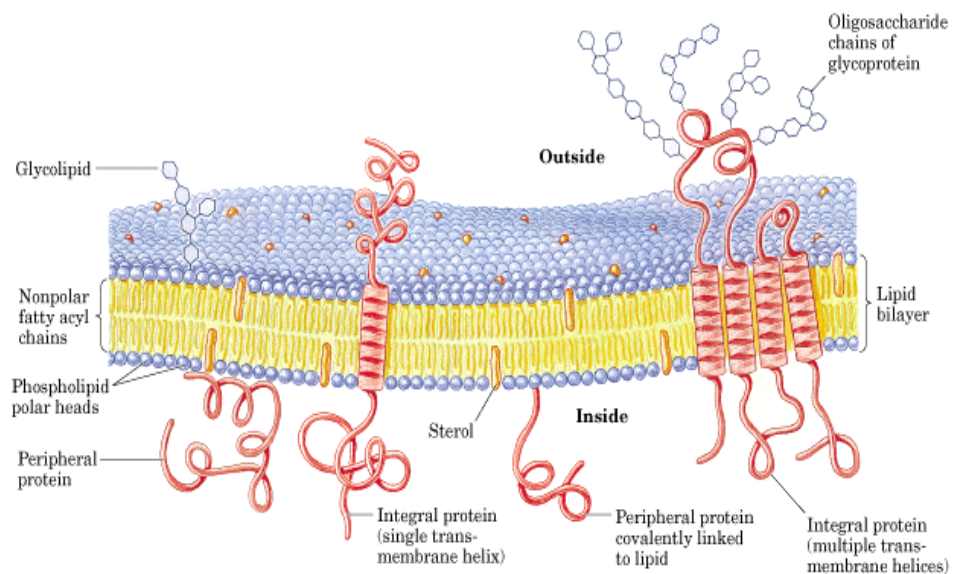


Micela

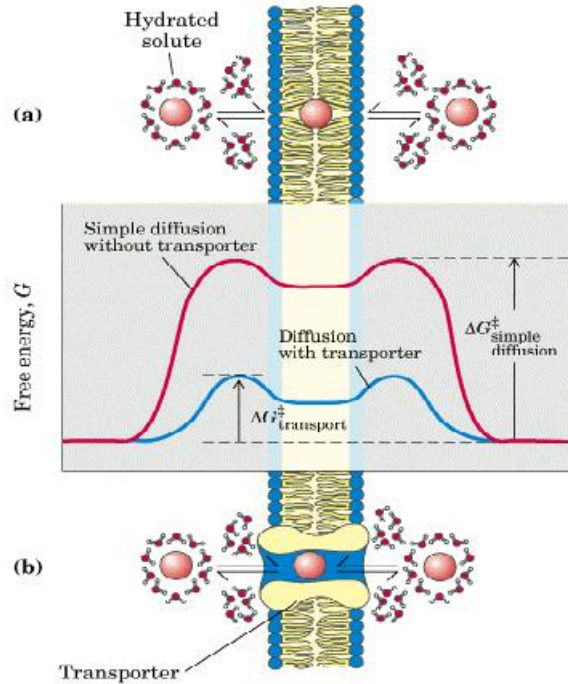


Bicamada

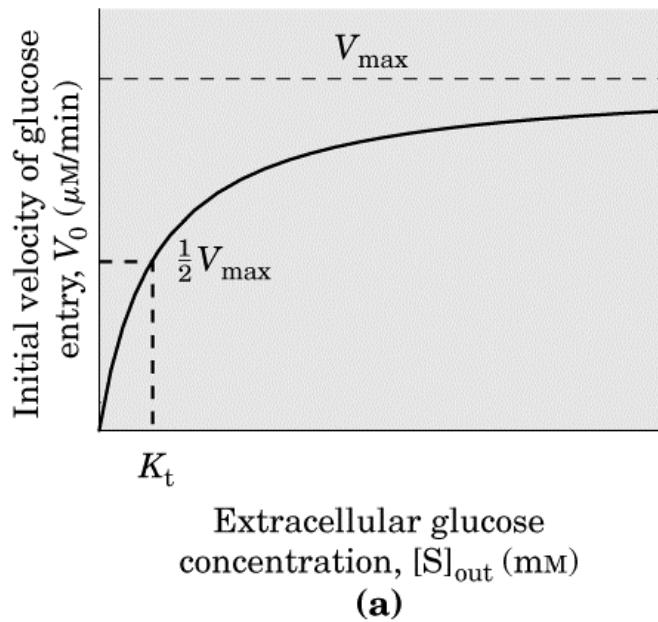
C. As membranas biológicas são compostas por proteínas associadas a uma matriz de bicamada lipídica. As proteínas que compõe as membranas pertencem a duas categorias: a) integrais ou intrínsecas e b) periféricas ou extrínsecas. Este arranjo estrutural foi originalmente proposto em 1972 por Singer e Nicholson como o modelo de mosaico fluído para as membranas biológicas, que foi plenamente confirmado por resultados experimentais estruturais e funcionais.



Modelo de mosaico fluído para membranas biológicas



D. As membranas são barreiras hidrofóbicas que oferecem grande resistência à passagem de solutos hidrofílicos, cuja permeação exige proteínas transportadoras específicas, conforme esquematizado na figura acima. Desta maneira a membrana, através de transportadores específicos, regula o transporte de metabolitos entre compartimentos celulares.



5. Um exemplo clássico de transporte é a tomada de glicose pela hemácia mediada por um transportador específico, cuja velocidade depende da concentração externa de glicose e obedece a uma curva hiperbólica de saturação já bem conhecida da cinética enzimática, sendo K_t análogo a K_m : Esta forma de transporte é conhecida como transporte passivamente mediado ou difusão facilitada. Trata-se de um processo exergônico, pelo qual o soluto, no caso a glicose, atravessa espontaneamente a membrana indo do compartimento de maior para o de menor concentração.

E. Existem 5 transportadores conhecidos que mediam a difusão facilitada de glicose em humanos: GLUT1 a 5, cujos K_t s são diferentes para atender as necessidades funcionais dos tecidos nos quais são expressos. GLUT1 é o transportador em hemácias, já GLUT2 é expresso no fígado e células beta do pâncreas, enquanto GLUT4 aparece no músculo esquelético, tecido adiposo etc.

F. Mas, no epitélio do intestino a glicose obtida da dieta é transportada para dentro da célula contra o gradiente de concentração, portanto através de um processo endergônico que exige consumo de energia metabólica para ocorrer e é referido como transporte ativo. Neste caso o transportador é chamado simport, pelo qual a glicose é transportada junto com Na^+ e é termodinamicamente possível porque existe um gradiente eletroquímico de Na^+ de fora para dentro da célula. Há múltiplas formas de transporte ativo, das quais este exemplo da glicose é apenas uma delas. Grande parte da energia metabólica consumida pelas células se deve à manutenção da enorme diversidade de transportadores que promovem a transferência de metabolitos e íons contra gradientes de concentração.

Componente	Concentração [M]	Velocidade Inicial (unidades arbitrárias)
Leucina	1×10^{-6}	110
	2×10^{-6}	220
	5×10^{-6}	480
	1×10^{-5}	830
	3×10^{-5}	1700
	1×10^{-4}	2600
	5×10^{-4}	3100
	1×10^{-3}	3200
	Etileno glicol	1×10^{-3}
5×10^{-3}		5
0,01		10
0,05		50
0,1		100
0,5		500
1,0		1000

Questão extra 1) Células epiteliais de intestino de camundongo isoladas em cultura transportam L-leucina e D-leucina mostrando K_t (mM) e V_{max} , respectivamente iguais a: 0,24 e 420 para L-leucina e 4,7 e 310 para D-leucina, ambos em presença de Na^+ no meio de cultura. Mas na ausência de Na^+ , L-leucina mostra 0,24 e 23 enquanto D-leucina mostra 4,7 e 5 para K_t (mM) e V_{max} , respectivamente. Classifique esse transportador de leucina quanto ao tipo e mecanismos de ação. Que efeitos você esperaria se nesse meio de cultura fosse colocada valinomicina (ionóforo de Na^+)? E se fosse dissolvida ouabaína (inibidor da ATPase Na^+/K^+) no meio de cultura? Explique.

Questão extra 2) Explicar o modelo de mosaico-fluido das membranas.

Questão extra 3) Explicar brevemente como proteínas integrais se inserem na membrana. Citar dois tipos de modificação pós-traducional que permitem a associação de proteínas periféricas na membrana.