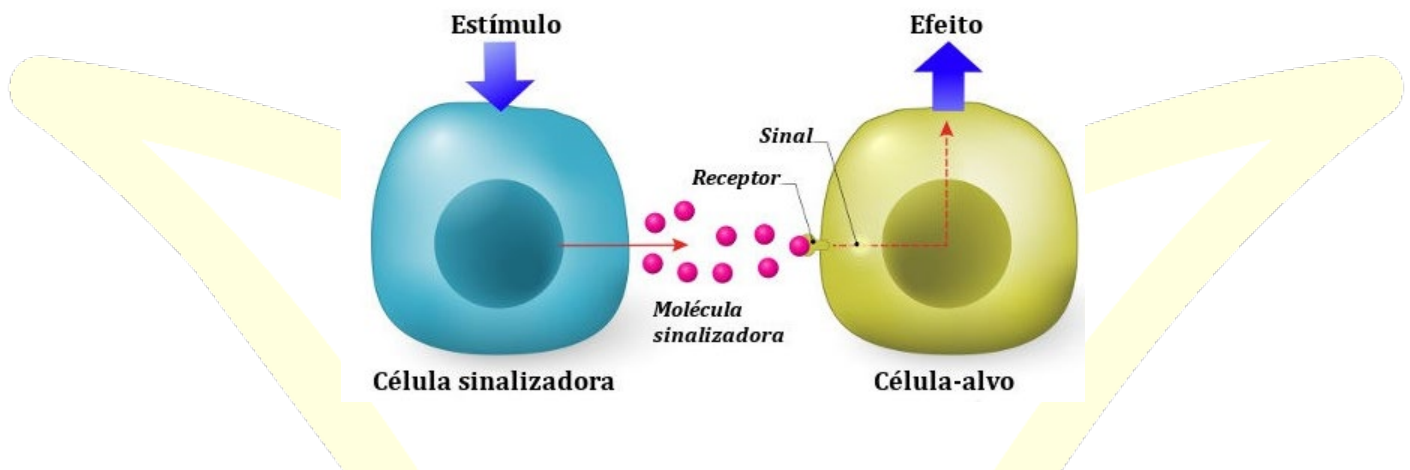


BIOSSINALIZAÇÃO

Prof.^a: Marina Pereira Rocha

A sinalização celular é um processo complexo de comunicação existente entre as células. Ele é fundamental para o funcionamento dos organismos multicelulares.



As células dos organismos multicelulares comunicam-se entre si por meio de sinais que emitem umas às outras. Esses sinais estimulam a célula a desenvolver uma determinada função, portanto, são essenciais para os organismos multicelulares.

→ Como ocorre a sinalização?

Cada célula está programada para responder a determinados sinais. Para isso, elas são dotadas de receptores que reconhecem as moléculas sinalizadoras. Essas moléculas podem ser proteínas, aminoácidos, hormônios e várias outras substâncias. O sinalizador, ao encontrar a célula, é reconhecido e ela responde da maneira adequada. Os sinalizadores podem ser de dois tipos: os **que penetram na célula e os que atuam externamente, na superfície celular**. No primeiro caso, as células possuem receptores intracelulares, e, no segundo caso, os receptores do sinalizador estão na membrana celular.

A célula que recebeu a molécula sinalizadora, também chamada de ligante, é denominada de célula-alvo. Já a célula que emite sinal ou libera os ligantes é denominada de célula sinalizadora.

→ **Etapas da sinalização**

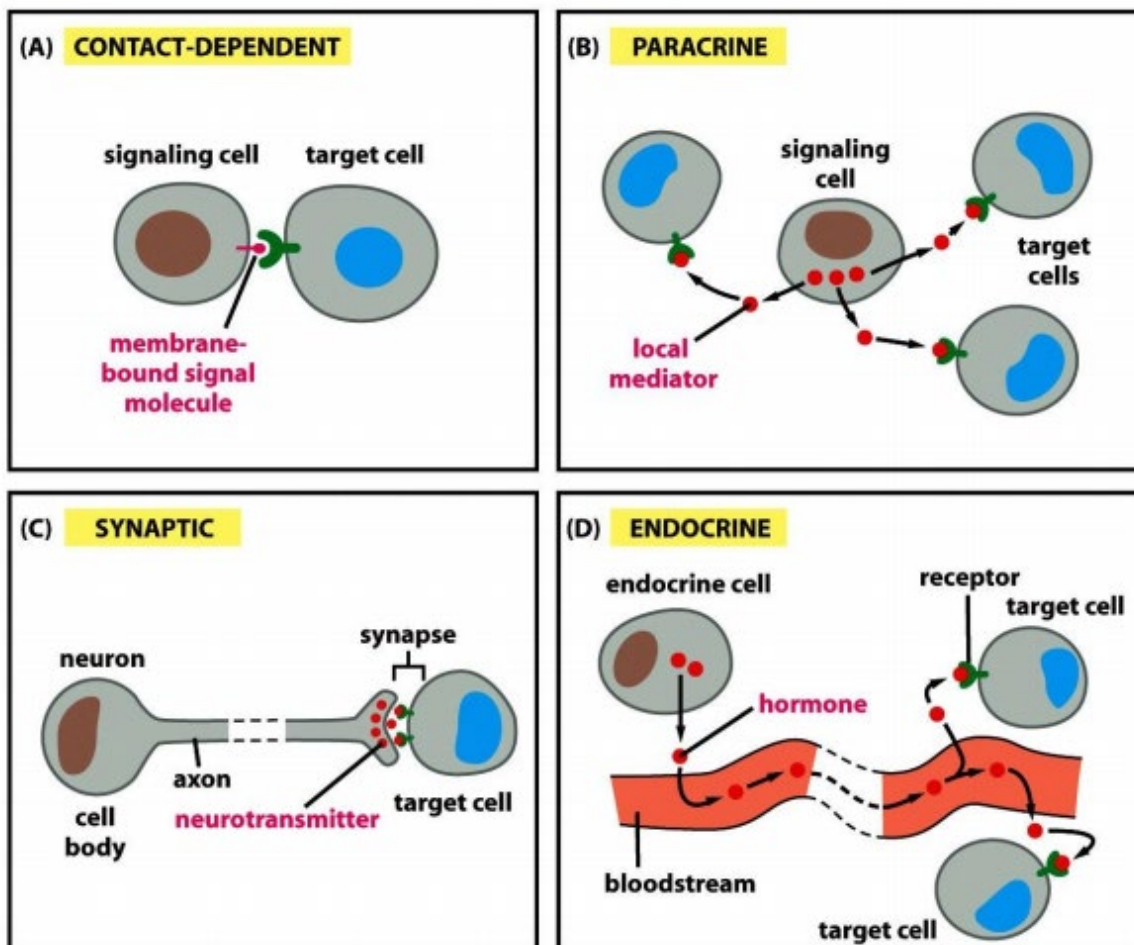
A sinalização pode ser dividida em cinco etapas básicas:

1. *Síntese e liberação da molécula sinalizadora pela célula sinalizadora;*
1. *Transporte da molécula sinalizadora até a célula-alvo;*
2. *Célula-alvo reconhece a molécula por meio de receptores;*
3. *Um sinal é emitido;*
4. *Modificações no metabolismo celular geram uma resposta celular.*

→ **Formas de sinalização celular**

Podemos classificar a sinalização de diferentes formas, seja pelo tipo de célula e a rota da substância sinalizadora, seja pela célula-alvo. Veja a seguir as principais formas de sinalização:

- **Sinalização endócrina:** nessa sinalização, as moléculas sinalizadoras (hormônios) são secretadas e, pela corrente sanguínea, chegam até sua célula-alvo.
- **Sinalização parácrina:** é um exemplo de sinalização que atua em curtas distâncias, alcançando as células-alvo pelo processo de difusão. Nesse caso, as moléculas atuam em células vizinhas à célula sinalizadora.
- **Sinalização autócrina:** destaca-se pelo fato de a molécula sinalizadora atuar na própria célula, ou seja, a célula-alvo é a célula secretora.
- **Sinalização sináptica:** as moléculas sinalizadoras (neurotransmissores) são lançadas nas sinapses, junções especializadas entre neurônios e células-alvo (outros neurônios, células musculares ou glândulas).
- **Sinalização neuroendócrina:** nesses casos, neurônios especializados secretam neurormônios que, por meio da corrente sanguínea, desencadeiam respostas em células-alvo localizadas em outras partes do organismo.



A velocidade da resposta depende do modo de liberação do sinal e da natureza da mudança comportamental que o sinal induz: **mudanças em proteínas ocorrem muito rapidamente, já mudanças na expressão gênica podem demorar minutos ou horas.** Outro fator que aumenta a rapidez da propagação do sinal é a presença de junções comunicantes. Elas conectam o citoplasma de células adjacentes, permitindo a troca de pequenas moléculas hidrossolúveis, em geral em ambas as direções. Isso torna homogêneas as concentrações dessas moléculas nas células envolvidas e permite a propagação do efeito de sinais que atuam por pequenos mediadores, como Ca^{2+} e cAMP.

A presença de junções comunicantes é muito útil para sinalização sináptica, pois é possível que nem todas as células de um tecido tenham inervação, como de fato ocorre em hepatócitos. A queda da glicemia provoca liberação de noradrenalina no fígado, o que provoca a degradação do glicogênio em resposta ao aumento do cAMP. Entretanto, nem todos os hepatócitos tem inervação simpática, e é por meio dessas junções que essas células tem seu nível de cAMP aumentado e respondem da mesma forma que os outros hepatócitos.

Respostas à sinalização

Diferentes tipos celulares respondem de forma diferente entre si aos mesmos sinais, característica que é desenvolvida com o processo de especialização de cada célula. As combinações de sinais são quase ilimitadas e por isso permitem o controle de diversos efeitos específicos, como diferenciação, proliferação e mesmo a sobrevivência ou a morte da célula. Por exemplo, os conjuntos de sinais fazem com que as células estejam restritas a um ambiente específico, pois diferentes células exigem diferentes combinações de sinais para sua sobrevivência.

A diferença da resposta aos sinais extracelulares além de ser causada pelos receptores, também ocorre devido a maquinaria celular (diferença na ativação de proteínas sinalizadoras intracelulares, de proteínas efetoras ou de genes), logo, um mesmo ligante tem efeitos distintos sobre tipos celulares distintos. Apenas o sinal extracelular não nos indica que efeitos poderão ocorrer nas células, já que ele apenas faz com que a célula reaja de acordo com seu desenvolvimento e genes expressos.

O mesmo sinal pode provocar também diferentes efeitos de acordo com sua concentração, pois o número de receptores ativados aumenta, logo, também aumenta a concentração ou a atividade de proteínas reguladoras gênicas, o que resulta em** diferenças no padrão de expressão gênica**. Isso é muito importante, por exemplo, durante o desenvolvimento, por causa do gradiente de concentração de morfógenos (ligantes que atuam durante o desenvolvimento) as células tomam rumos distintos.

A velocidade com que a célula responde a remoção de um sinal depende da velocidade com que as moléculas da via de sinalização são destruídas e repostas ou, o que é mais comum, de sua conversão da forma ativa para a inativa. Como consequência, isso também determina com que rapidez uma resposta se dá quando o sinal é emitido, por isso processos que ativam proteínas, como fosforilação e ligação de GTP a uma proteína, ocorrem de forma rápida e são continuamente revertidos.

Receptores intracelulares

Esse tipo de sinalização se dá através de moléculas hidrofóbicas, como os esteróis, ou pequenas o suficiente para atravessar a membrana, como gases, e quando chegam ao interior da célula regulam diretamente a atividade da proteína alvo.

Temos como exemplo dessa sinalização:

- **Alteração da atividade de uma enzima** - gás NO - o NO é produzido por uma enzima chamada óxido nítrico-sintase (NOS) a partir da desaminação de uma arginina, se difunde rapidamente para fora da célula que o sintetizou e também é degradado rapidamente (em torno de 10 segundos) pela reação com água e O₂. Nas células-alvo, ele se liga à enzima guanilil-ciclase, que catalisa a síntese de cGMP (GMP cíclico), o qual é degradado por uma fosfodiesterase. Mas o NO também pode alterar a atividade de uma proteína intracelular pela nitrosilação de grupos tiol (-SH) em cisteínas específicas.

Por meio dessas vias **o NO possui como funções:** relaxar musculatura lisa, como a dos vasos sanguíneos. Nervos simpáticos liberam acetilcolina nas paredes dos vasos, a qual atua sobre eles fazendo-os liberar NO, que relaxa o vaso. Ajuda a combater infecções: o NO também é produzido por macrófagos e neutrófilos (ambos leucócitos) no combate de infecções. Nitroglicerina é usada no tratamento de pacientes com angina (dor que resulta do fluxo inadequado de sangue no miocárdio) por causa da ação do NO sobre os vasos. A nitroglicerina é convertida ao gás e dilata as arteríolas, diminuindo a carga de trabalho no coração, logo, sua necessidade por oxigênio.

- **Ativação de receptores nucleares** – hormônios esteroides e tireóideos, retinóis e vitamina D - o mecanismo de ação dessas moléculas é muito semelhante entre si: elas ligam-se ao receptor nuclear e alteram sua capacidade de controle da transcrição gênica. Por serem insolúveis, essas moléculas são transportadas pela corrente sanguínea por meio de proteínas carreadoras e se dissociam delas antes de entrar na célula-alvo. Os receptores ligam-se a sequências adjacentes aos genes regulados pelo ligante, alguns desses receptores ficam no citosol e só após sua ativação se ligam ao DNA, outros permanecem ligados a ele. A ativação altera a estrutura do receptor, que se separa do complexo inibidor e se liga a proteínas coativadoras da transcrição, mas a ligação pode ter função inversa, inibindo a transcrição em outros casos (alguns receptores de hormônios tireóideos). A resposta transcricional ocorre em várias etapas: resposta primária, em que o ligante ativa a transcrição de um determinado grupo de genes, cujos produtos podem inclusive ter efeito de feedback negativo; resposta secundária, ativada pelos produtos dos genes que foram ativados pela molécula-sinal, etc. Essas respostas variam de acordo com

o tipo celular do alvo, com a molécula-sinal e a combinação delas, já que são necessárias algumas proteínas reguladoras para iniciar a transcrição.

Receptores de superfície celular e vias de sinalização

Há três amplas classes de receptores:

- **Receptores associados a canais:** esse tipo também é conhecido como receptor ionotrópico e está envolvido na sinalização sináptica, abrindo e fechando canais iônicos ao se ligar um neurotransmissor nesses receptores. Não serão tratados nesse tópico, já que foram discutidos no tópico sobre Propriedades elétricas da membrana.

- **Receptores associados à proteína G (GPCR):** atuam indiretamente na regulação de enzimas e canais iônicos. Eles ativam uma proteína chamada proteína trimérica de ligação a GTP (proteína G), a qual medeia a interação entre o GPCR e a proteína alvo.

- **Receptores associados a enzimas:** funcionam como enzimas ou estão associados a elas, sendo que a maioria deles e das proteínas associadas são cinases (quinases), como as os receptores tirosina cinase (RTK), os mais abundantes de sua classe, e os receptores de citocinas. Há ainda receptores que não se enquadram nessas categorias (Notch, Hedgehog), mas possuem grande importância no desenvolvimento e regeneração de tecidos, eles serão tratados posteriormente neste tópico. A maioria desse tipo de receptores transmite o sinal por meio de pequenas moléculas sinalizadoras (mediadores intracelulares pequenos, segundos mensageiros ou mensageiros secundários) e de proteínas sinalizadoras citosólicas.

Os segundos mensageiros são gerados em resposta direta a ativação do receptor ou por proteínas sinalizadoras intracelulares, e podem ser hidrossolúveis (Ca^{2+} , cAMP), difundindo-se pelo citosol, ou lipossolúveis (diacilglicerol), difundindo-se pela membrana plasmática, transmitindo o sinal por se ligarem a proteínas sinalizadoras ou efetoras, o que altera sua conformação e seu comportamento. As proteínas de sinalização intracelular agem na via de sinalização por uma ou mais formas listadas a seguir:

- **Transmitir a mensagem** para a proteína seguinte na via.
- **Atuar como suporte para outras proteínas** (proteínas *scaffold*), o que impede a comunicação cruzada, pois há vias em que alguns dos componentes são os mesmos (como o módulo MAPK),

e também faz com que as proteínas reunidas possam interagir de forma mais rápida e eficiente. Por meio dessas proteínas de suporte formam-se os complexos de sinalização, que podem ser organizados antes de se receber o sinal ou apenas em resposta ao sinal. Em muitos casos, o próprio receptor pode ser o sítio de ancoragem das proteínas quando alguns de seus aminoácidos estão fosforilados, lipídeos especiais (fosfoinosídeos) também atuam dessa forma. A aproximação é útil também para a ativação das proteínas em alguns casos (proximidade induzida).

- **Transduzir (transformar) o sinal recebido**, que se torna mais adequado para ser passado adiante.

- **Amplificar o sinal** por meio da produção de amplas quantidades de segundos mensageiros ou acionando múltiplas cópias de uma proteína sinalizadora.

- **Integrar sinais**, recebendo-o a partir de mais de uma via e sendo ativadas apenas quando recebem múltiplos sinais convergentes.

- **Propagar o sinal** de uma via para outra, criando ramificações na sinalização.

- **Ancorar uma ou mais proteínas** para conduzir o sinal para uma determinada estrutura da célula.

- **Modular a atividade de outras proteínas sinalizadoras**, regulando a intensidade do sinal. Grande parte das vias de sinalização possui mecanismos de retroalimentação, que pode ser de dois tipos:

- **Positiva**, quando o produto estimula sua própria produção. Respostas de retroalimentação positiva tem **efeitos diferentes de acordo com sua intensidade**: se for fraca, produzirá um aumento abrupto da resposta, se for forte, produzirá uma resposta muito alta e autossustentada, de forma que a resposta não diminui mesmo que a intensidade do sinal tenha caído. Essas respostas fortes são importantes para a célula tomar decisões do tipo “tudo ou nada” estáveis, cujas mudanças são de longa duração e passam para suas células-filhas, o que é essencial durante o desenvolvimento, quando a variação da concentração de morfógeno deve induzir a diferenciação das células.

- **Negativa**, quando o produto inibe sua produção, abreviando e limitando o grau da resposta. Também há variação qualitativa nesses tipo de resposta de acordo com a força do sinal: se o for retardo curto, há um fenômeno conhecido como **adaptação** – a resposta inicial é forte, mas decai mesmo com a persistência do sinal, e se há aumento da intensidade do sinal, a resposta aumenta novamente –que é muito útil para detectar

mudanças na concentração de ligante, ao invés de reagir à concentração absoluta; e se o retardo for longo pode produzir respostas oscilantes.

Outra característica das vias de sinalização é a capacidade de ajustar sua sensibilidade, respondendo a variações do estímulo em uma ampla escala de intensidades de um sinal. Isso é conhecido como adaptação, que funciona basicamente por causa da retroalimentação negativa de retardo curto. A adaptação pode ocorrer por endocitose e sequestro do receptor, que pode ser temporário ou pode levar a sua quebra nos lisossomos (retorregulação do receptor). É importante notar que a endocitose apenas não significa sempre que o receptor esteja inativo, ele pode continuar ativo mesmo dentro de uma vesícula sinalizadora.

- Inativação dos receptores na superfície celular.
- Inativação das proteínas sinalizadoras.
- Produção de proteínas inibidoras.

As principais vias ativadas por proteína G são:

- **cAMP:** A proteína G estimuladora (Gs) ativa a enzima adenilil-ciclase que produz cAMP (AMP cíclico) a partir de ATP, enquanto que a proteína G inibidora (Gi), inibe essa enzima. A degradação do cAMP se dá pela ação de fosfodiesterases de cAMP, que o hidrolisam a AMP.

O principal modo de o cAMP agir em células animais é a ativação da PKA (proteína-quinase dependente de cAMP), que é uma serinatreonina-quinase e que possui duas subunidades reguladoras e duas subunidades catalíticas. A ligação de cAMP às subunidades reguladoras causa a dissociação o complexo e a ativação das subunidades catalíticas, que fosforilam substratos específicos, os quais variam de acordo com o tipo celular e a molécula-sinal extracelular. Dessa forma, o cAMP pode mediar tanto processos de curta duração, como a modificação de proteínas, quanto de longa duração, como a transcrição de genes específicos. Uma proteína que participa da regulação da transcrição de genes é CREB (proteína de ligação a CRE), que se liga à região reguladora de um gene, chamada de CRE (elemento de resposta ao cAMP). CREB fosforilado pela PKA recruta um coativador chamado CBP (proteína de ligação a CREB), o que estimula a transcrição do gene alvo. Essa via de sinalização controla muitos processos celulares, como a síntese de hormônios e a indução da memória de longa duração.

O IP_3 é hidrossolúvel e atua pela ligação a receptores de IP_3 , que são canais para Ca_2^+ do retículo endoplasmático, aumentando a $[Ca_2^+]_i$ rapidamente. O diacilglicerol é lipossolúvel e tem duas funções:

1. Papel potencial na sinalização, podendo ser clivado e liberar ácido aracídico, que pode ser usado como segundo mensageiro ou para produzir eicosanoides, como as prostaglandinas. Elas tem importante participação nas respostas inflamatórias e à dor, tanto que muitos anti-inflamatórios (aspirina, cortisona) inibem sua síntese.
2. Ativação da PKC, uma serinatreonina-cinase, em conjunto com o Ca_2^+ . A PKC, chamada assim pela sua dependência de Ca_2^+ , fosforila diversas proteínas dependendo do tipo celular em que está presente.

Receptores de superfície associados a enzimas

Existem seis classes desse tipo de receptor: receptores tirosina-cinase, receptores associados à tirosina-cinase, receptores serinatreonina-cinase, receptores associados à histidina-cinase, receptores guanilil-ciclase, tirosina fosfatases. Dessas, serão tratadas as primeiras quatro classes.

Receptores tirosina-cinases e componentes de vias de sinalização

Esses são os receptores mais numerosos entre os que são associados a enzimas, e são exemplos da família o EGF (fator de crescimento epidérmico), o IGF-1 (fator de crescimento-1 semelhante à insulina) e o VEGF (fator de crescimento vascular). Os RTKs mais abundantes são os receptores Eph, que tem como ligante as proteínas-sinal transmembrana chamadas efrinas. A sinalização por meio do Eph é bidirecional, pois as efrinas e os Eph atuam tanto como ligantes quanto como receptores, transmitindo um sinal em ambas as células. Esse tipo de sinalização é importante no desenvolvimento, impedindo que grupos de células se misturem, entre outros casos.

Algumas proteínas muito importantes na via de sinalização por RTKs são:

- **Proteínas da superfamília Ras:** consiste em muitas famílias de GTPases monoméricas, mas apenas as da Ras e da Rho estão envolvidas com sinalização, cujos membros são importantes centros de sinalização, pois podem propagar coordenadamente o sinal para diversas vias. A ativação da proteína pode se dar tanto pela ativação de uma Ras-

GEF ou pela inibição de uma Ras-GAP, normalmente ela se dá pelo acoplamento indireto com Ras-GEF.

- **Ras:** um dos mecanismos pelo qual Ras afeta a transcrição gênica é o **módulo MAP-cinase**(módulo proteína-cinase ativada por mitógenos), que é **formado por três cinases** conhecidas nos mamíferos como **Raf (MAPKKK), Mek (MAPKK) e Erk (MAPK)**. A Erk MAP-cinase entra no núcleo e fosforila componentes reguladores da transcrição de genes precoces imediatos chamados assim por serem ativados poucos minutos após a ligação da molécula-sinal extracelular, que serão responsáveis pela ativação de outros genes. Um gene que é ativado dessa forma é o que codifica as ciclinas G₁, necessárias à proliferação celular. A via está esquematizada no vídeo abaixo.

Receptores associados a tirosina-cinases

Esses receptores agem por meio de tirosina-cinases citoplasmáticas, pertencendo a essa categoria os receptores de antígenos e interleucinas de linfócitos, receptores de citocininas e hormônios, e também integrinas, principal família de receptores para a célula se ligar à matriz extracelular. As integrinas, quando ativadas, desencadeiam a formação de adesões focais, formadas por proteínas como FAKs (cinase de adesão focal) e Src, que fosforilam uma a outra e a outras proteínas que se agrupam na junção. A via sinaliza então para a célula que ela está aderida a um substrato adequado a sua sobrevivência e multiplicação.

Os receptores de citocininas compõe a maior classe da categoria dos receptores associados a tirosina-cinases, englobando receptores para mediadores locais (citocininas) e hormônios, como o GH e a prolactina. O funcionamento da via está esquematizada abaixo. A modulação da via é feita por proteínas inibitórias cuja transcrição é ativada pelas JAKs, atuando sobre as próprias JAKs ou sobre as STATs, mas ambas só são inativadas pela ação de tirosina-fosfatases específicas. A ação dessas enzimas garante que as fosforilações tenham curta duração.

Referência

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014. 1328p.