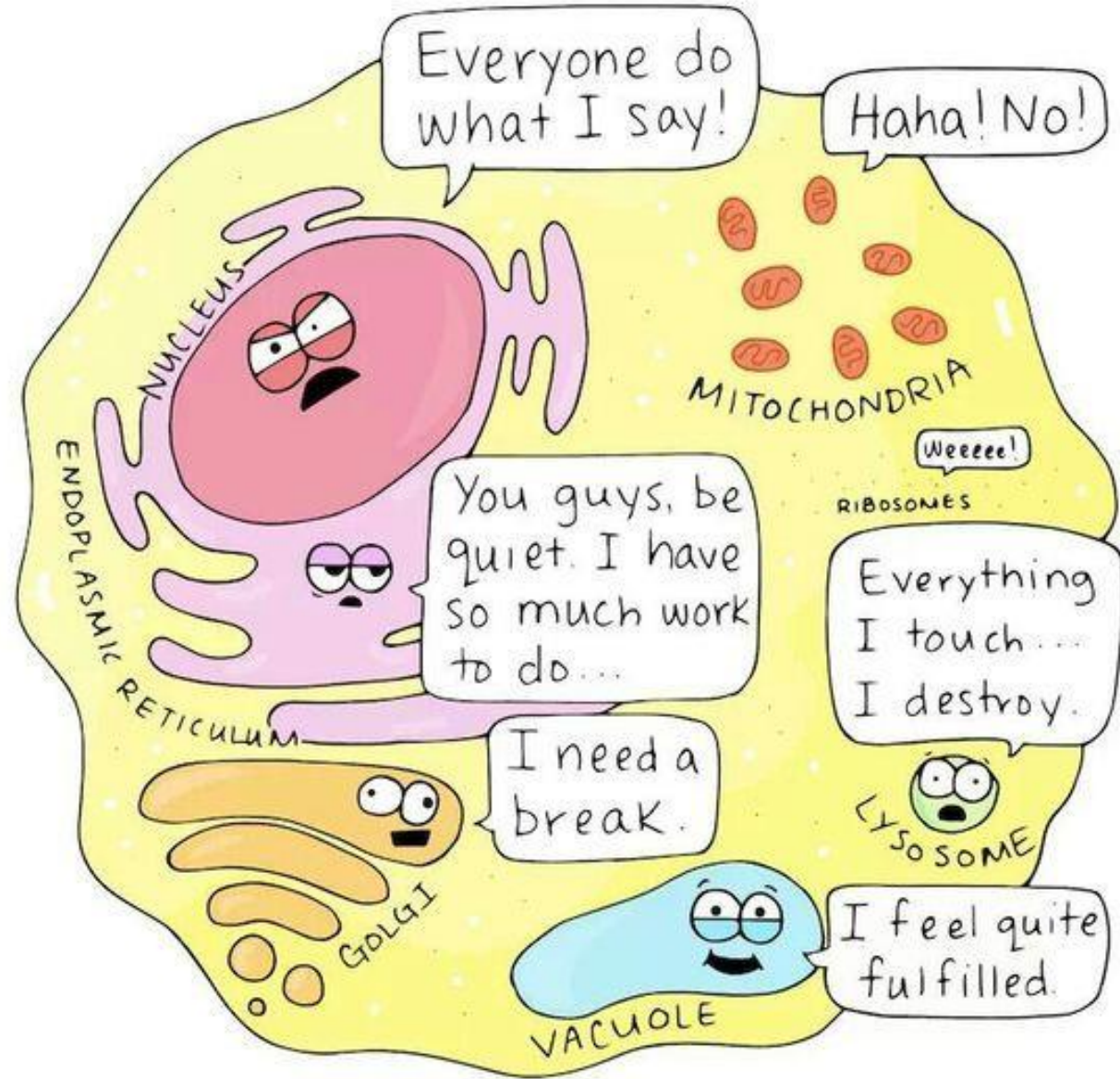


BIOLOGIA CELULAR

3ª Aula

LISOSSOMA E PEROXISSOMA

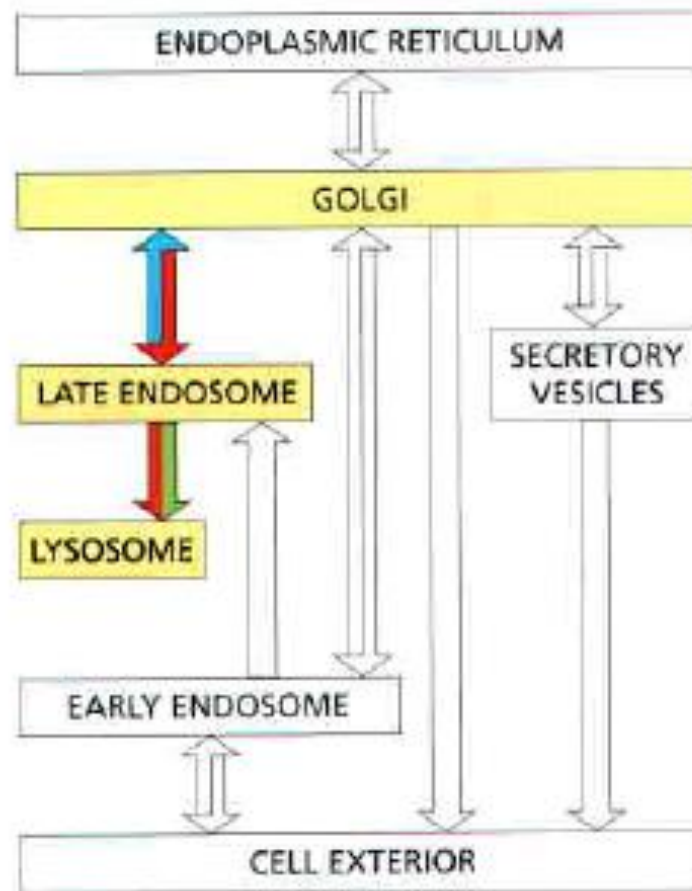


If organelles could talk.

Beatrice the Biologist

A rede trans-Golgi faz a triagem/encaminhamento de todas as proteínas que passam através do complex de Golgi (excepto aquelas que são retidas lá como residentes permanentes) de acordo com o seu destino final.

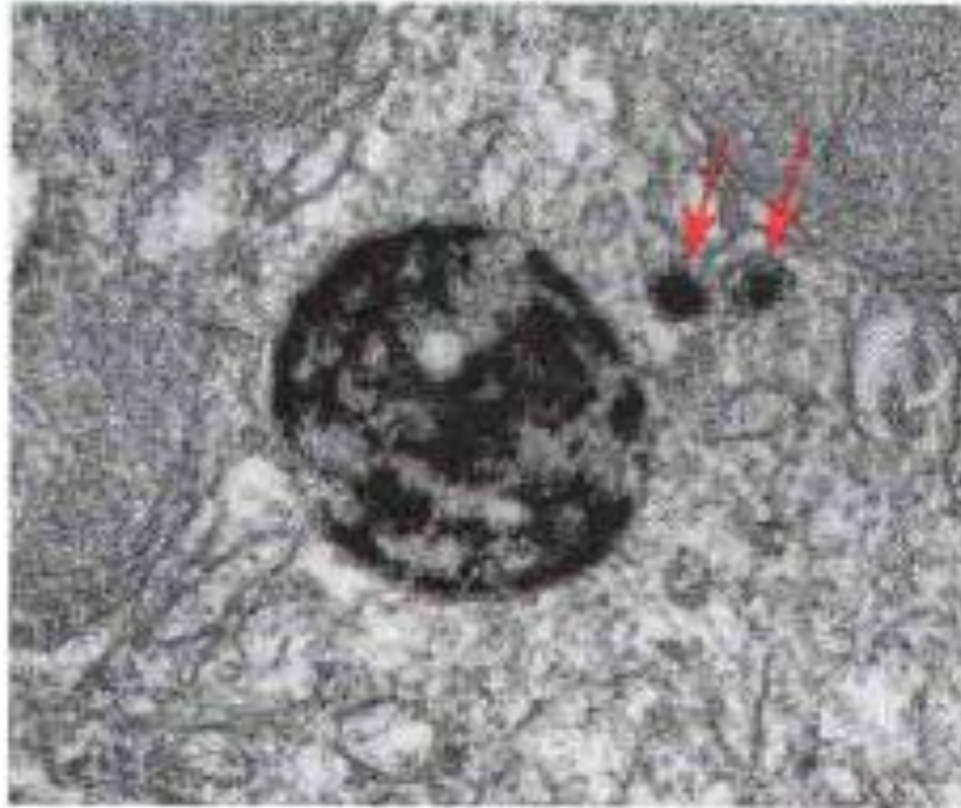
O mecanismo de triagem é particularmente bem conhecido para as proteínas que têm como destino final o lúmen dos **lisossomas**.



Lisossomas

O lisossomas são vesículas produzidas a partir de **destacamentos do Golgi**, presentes em todas as células eucariotas, em número variado.

Os lisossomas são organelos citoplasmáticos limitados por membrana, contendo diversas **hidrolases ácidas** e que têm por função principal a **digestão intracelular de macromoléculas**.



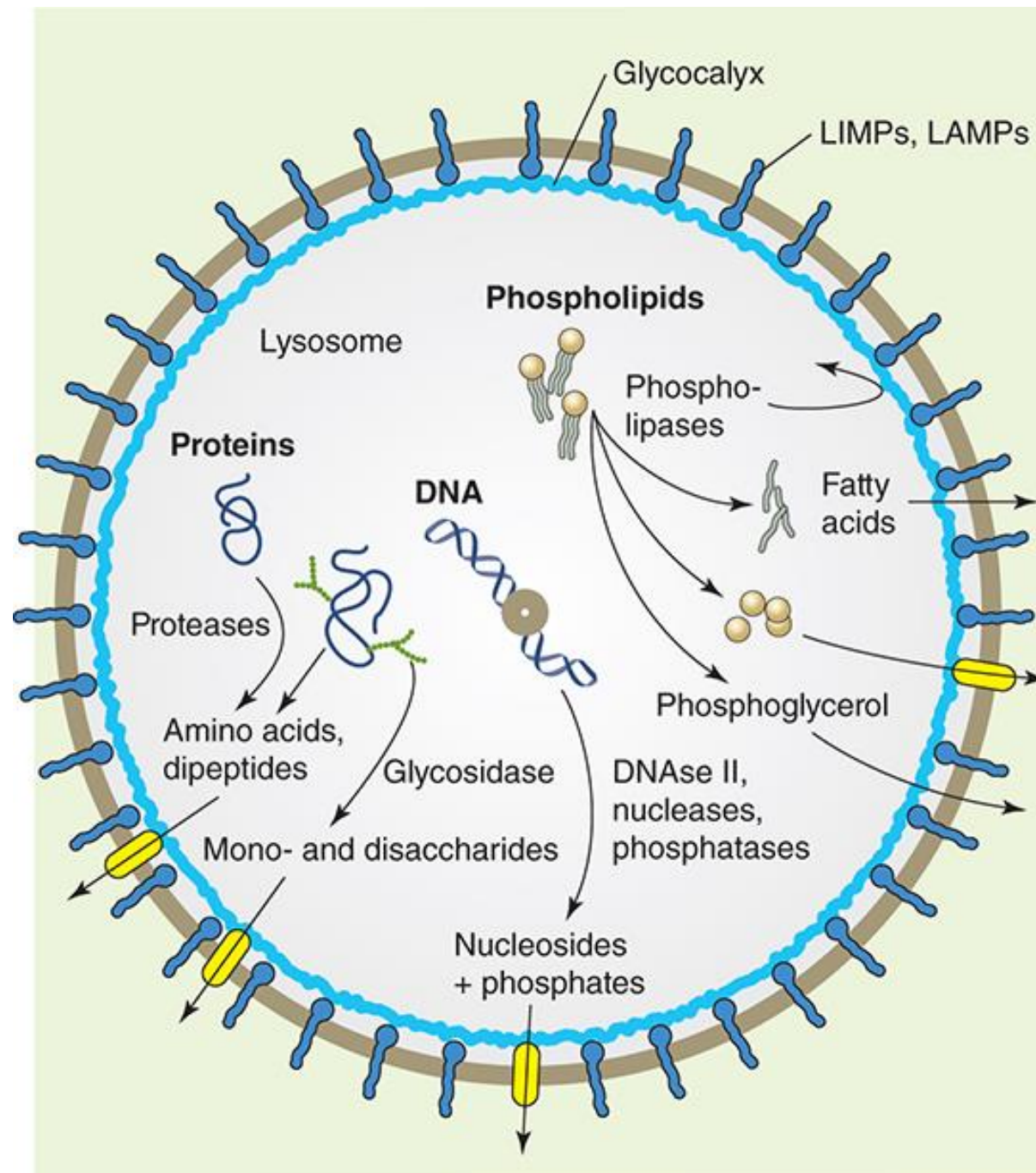
Lisossomas

Os lisossomas contém cerca de **40-50 tipos** de enzimas hidrolíticas, incluindo proteases, lipases, nucleases, glicosidases, fosfolipases, fosfatase ácida e arilsulfatases, que permitem **decompôr praticamente todo o tipo de macromoléculas** nos seus constituintes fundamentais.

Quadro 1. Exemplos de enzimas lisossomais

Lipases	Proteinases	Fosfatases	Glucosidases	Nucleases	Sulfatases
Triglicerídeos lipase	Exopeptidases Catepsina A	Fosfatase ácida	Exoglucosidases α -glucosidase α -galactosidase β -manosidase	Desoxirribo- nuclease II Ribonu- clese II	Arilsulfatase A Arilsulfatase B
Fosfolipase A1 Fosfolipase A2	Catepsina C Catepsina H Endopeptidases Catepsina D Catepsina G Catepsina L		Endoglucosidases Hialuronidase Lisozima		

Lisossomas



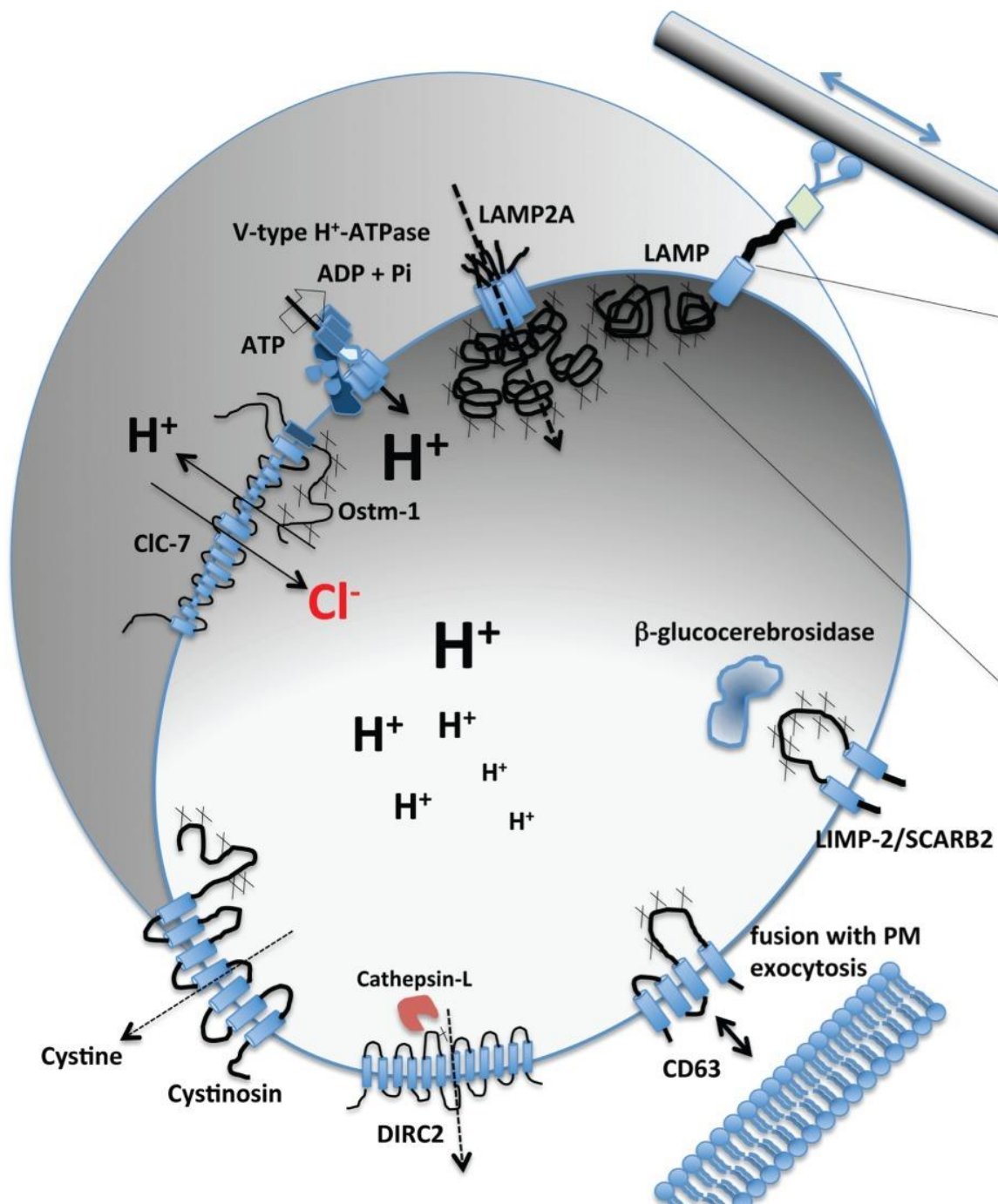
Os lisossomas contêm uma colecção única de **enzimas**.

Todas estas enzimas são **hidrolases ácidas**, i.e. necessitam de um ambiente ácido para actuarem.

O **pH ácido** (pH 4,5-5) no lúmen dos lisossomas é mantido à custa de uma **ATPase/bomba de H^+** na membrana dos lisossomas.

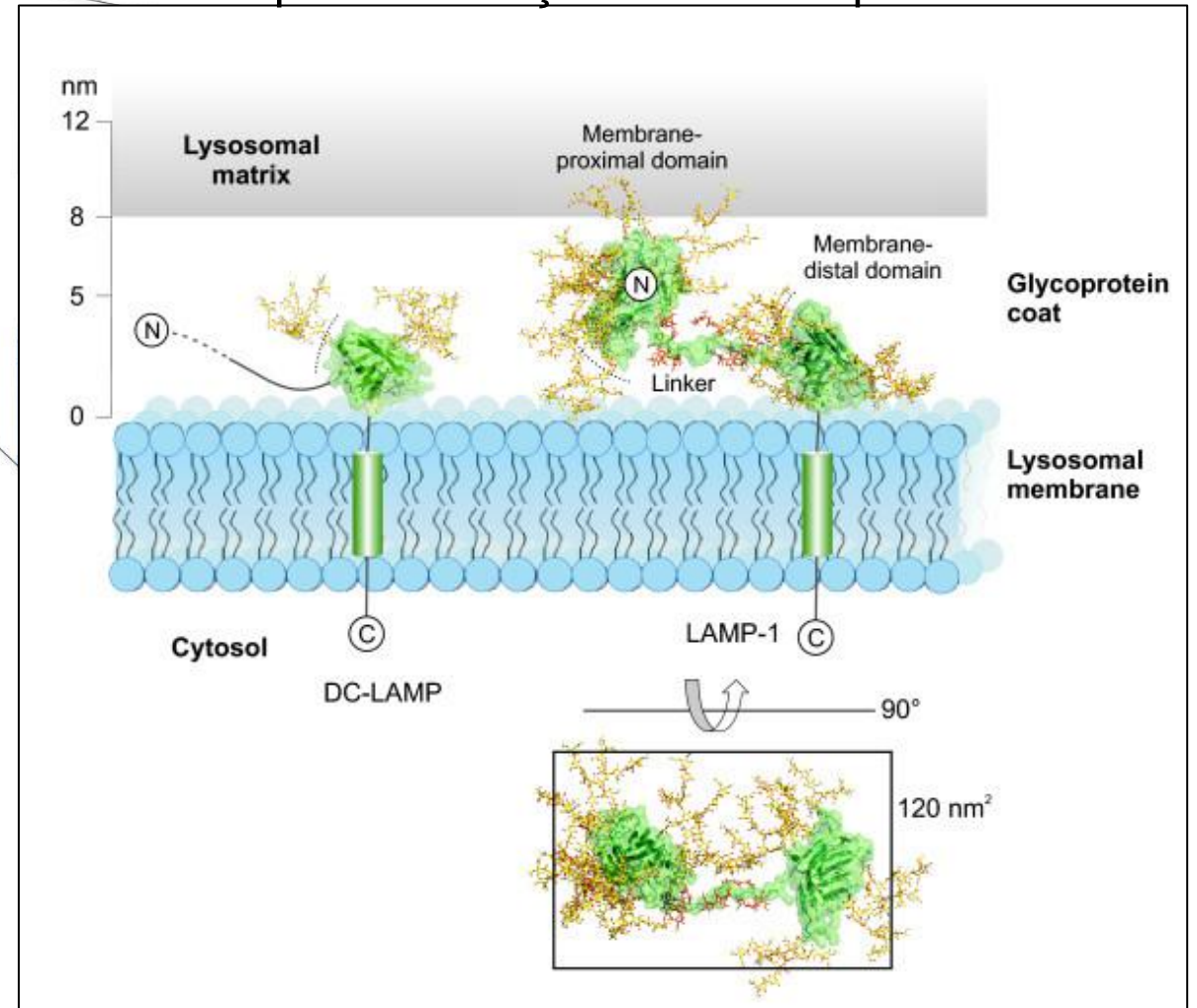


As proteínas de transporte da membrana lisossomal transportam os produtos finais da **digestão de macromoléculas** (aminoácidos, açúcares e nucleótidos) para o citosol, onde a célula os pode reutilizar ou excretar.



Os lisossomas têm uma **membrana** que envolve única .

A maioria das proteínas da membrana dos lisossomas são atipicamente **muito glicosiladas**, o que ajuda a protegê-las contra a acção das **proteases** lisossomais do lúmen. Este glicocalix também protege os fosfolípidos da acção das fosfolipases.

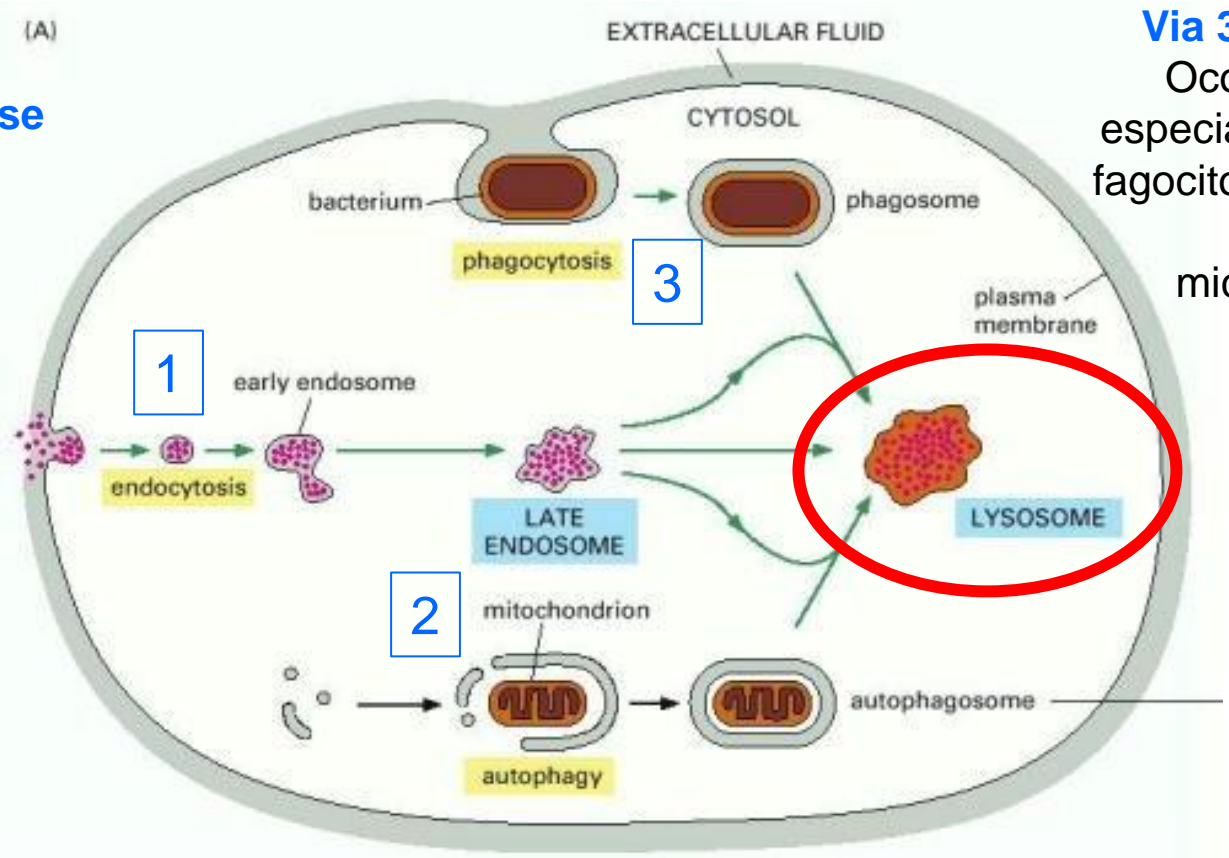


A diversidade e heterogeneidade da morfologia dos lisossomas reflecte a diversidade de funções digestivas que as hidrolases ácidas medeiam:

- ✿ Degradação de detritos intra- e extracelulares;
- ✿ Destruição de microorganismos fagocitados;
- ✿ Produção de nutrientes para as células.

Os lisossomas são geralmente locais de convergência de vários fluxos de tráfego intracelular. A **via ER-Golgi** transporta a maioria das **enzimas digestivas** dos lisossomas. Há, pelo menos, **3 vias**, vindas de diferentes proveniências que encaminham materiais para serem digeridos nos lisossomas.

Via 1 – Endocitose
Degradação de macromoléculas provenientes da endocitose.



Via 3 – Fagocitose
Ocorre em células especializadas para a fagocitose de grandes partículas e microorganismos.

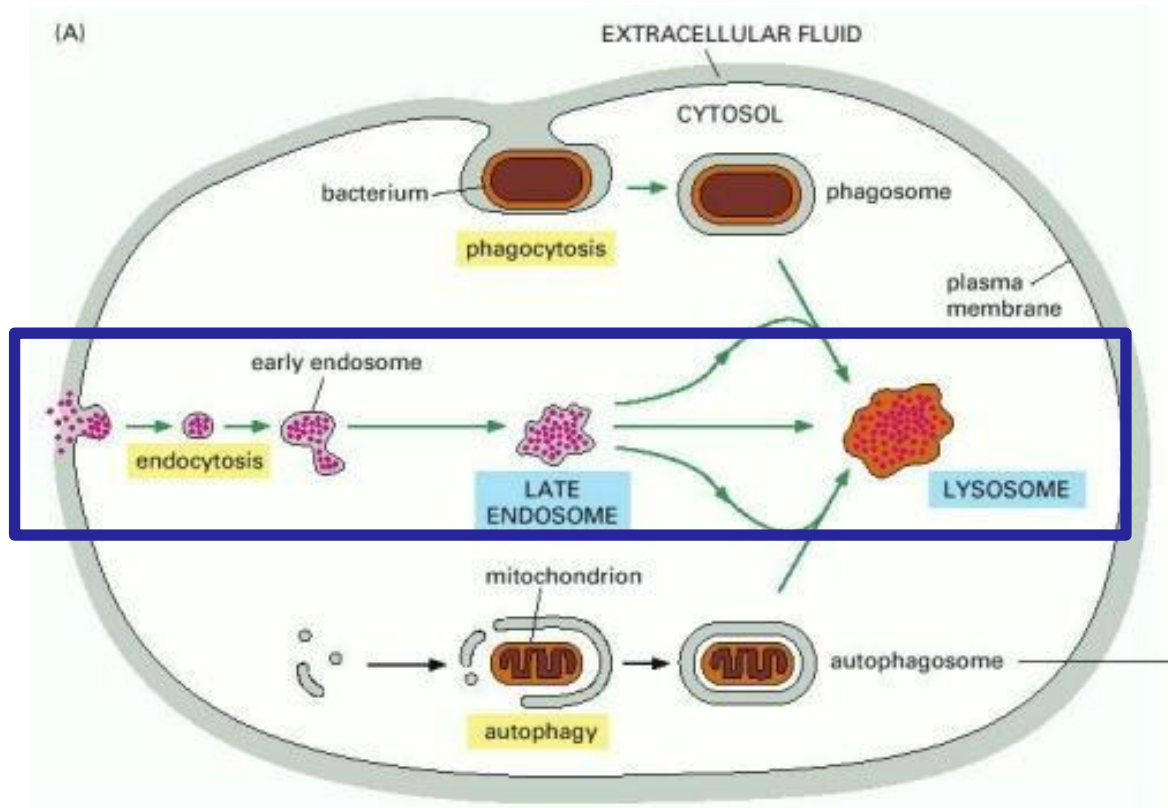
Via 2 – Autofagia Degradação de conteúdos intracelulares, macromoléculas e organelos obsoletos.

Endocitose

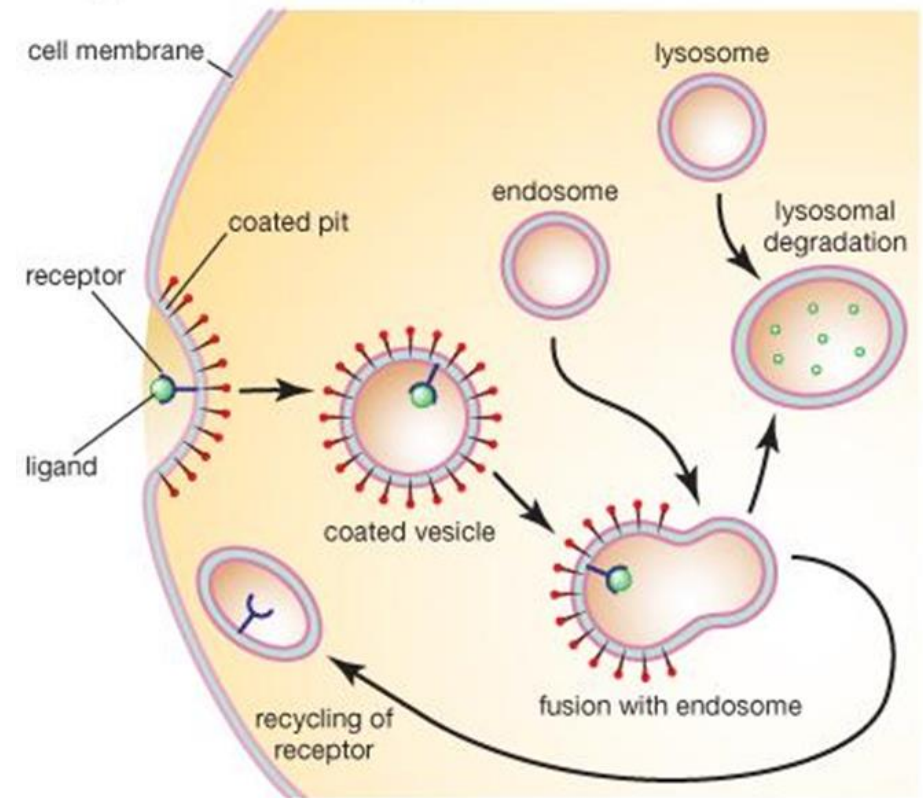
As moléculas endocitadas são encaminhadas em vesículas para organelos intracelulares pequenos e de forma irregular – **endossomas precoces/imaturos**.

Nesses endossomas, os materiais endocitados encontram as hidrolases lisossomais, provenientes do Golgi.

Algumas moléculas são recuperadas e recicladas, enquanto que outras passam para **endossomas tardios** e são degradadas.



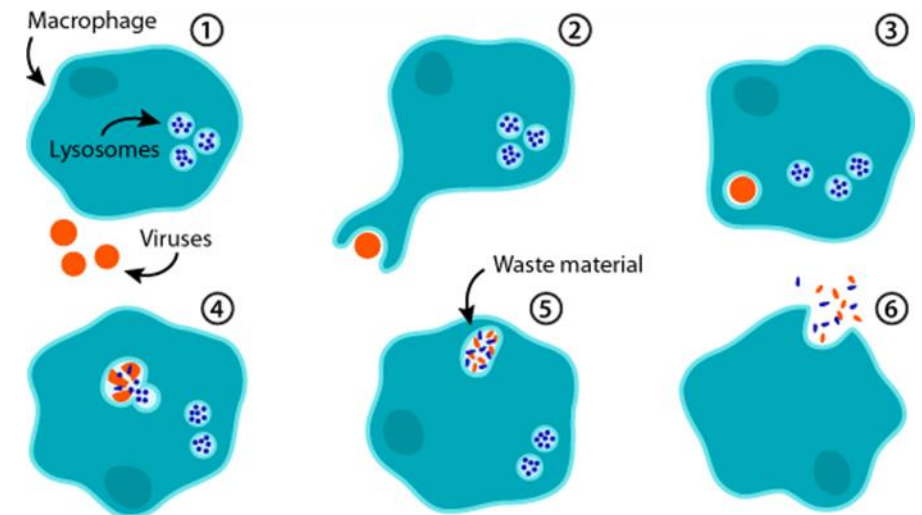
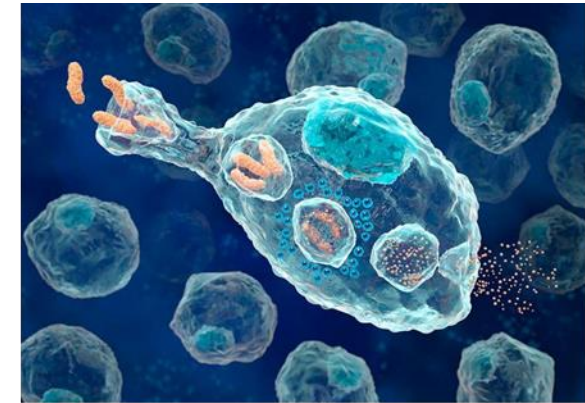
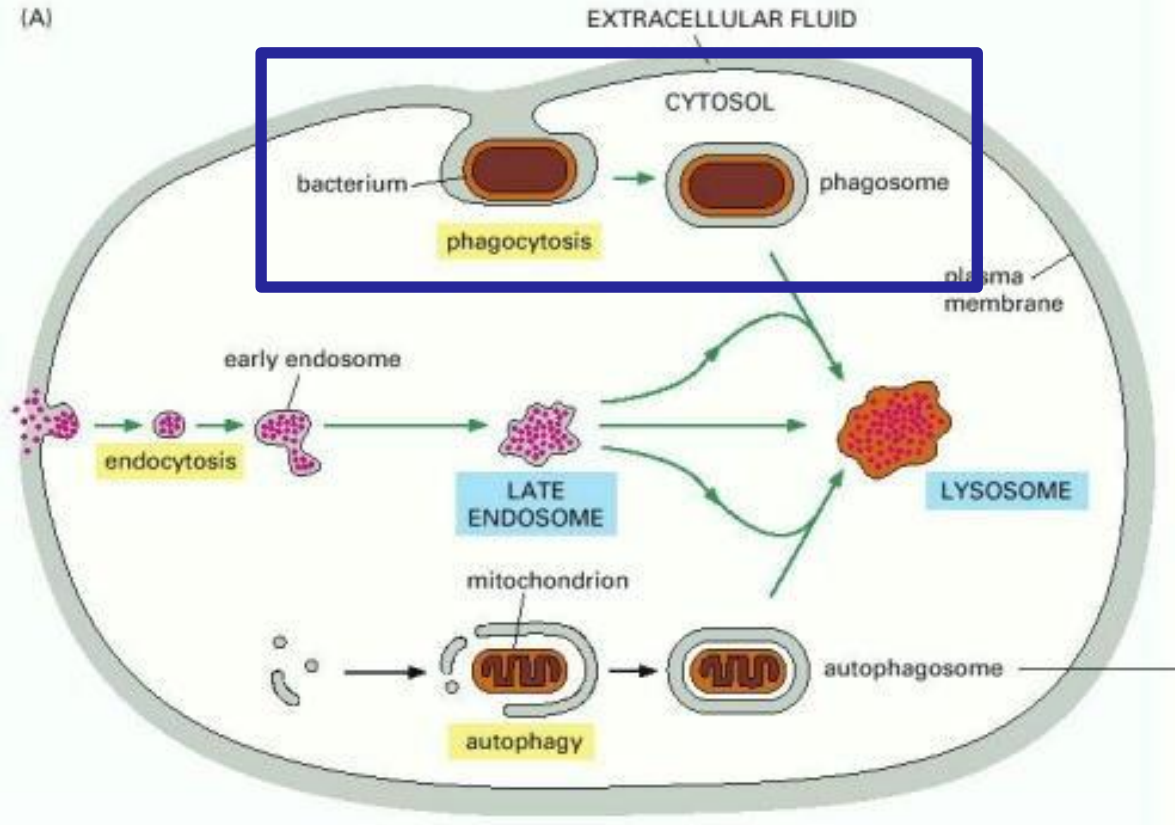
Receptor-mediated endocytosis



Fagocitose

Esta via existe predominantemente em células especializadas para **fagocitar grandes partículas (detritos celulares ou células mortas) ou microorganismos** (ex. macrófagos, neutrófilos e microglia nos vertebrados).

As células envolvem o material para formar um **fagossoma**. O fagossoma posteriormente funde-se com um **lisossoma**. Aí o material fagocitado é degradado e posteriormente os detritos são libertados para fora da célula.



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2016



Photo: Mari Honda

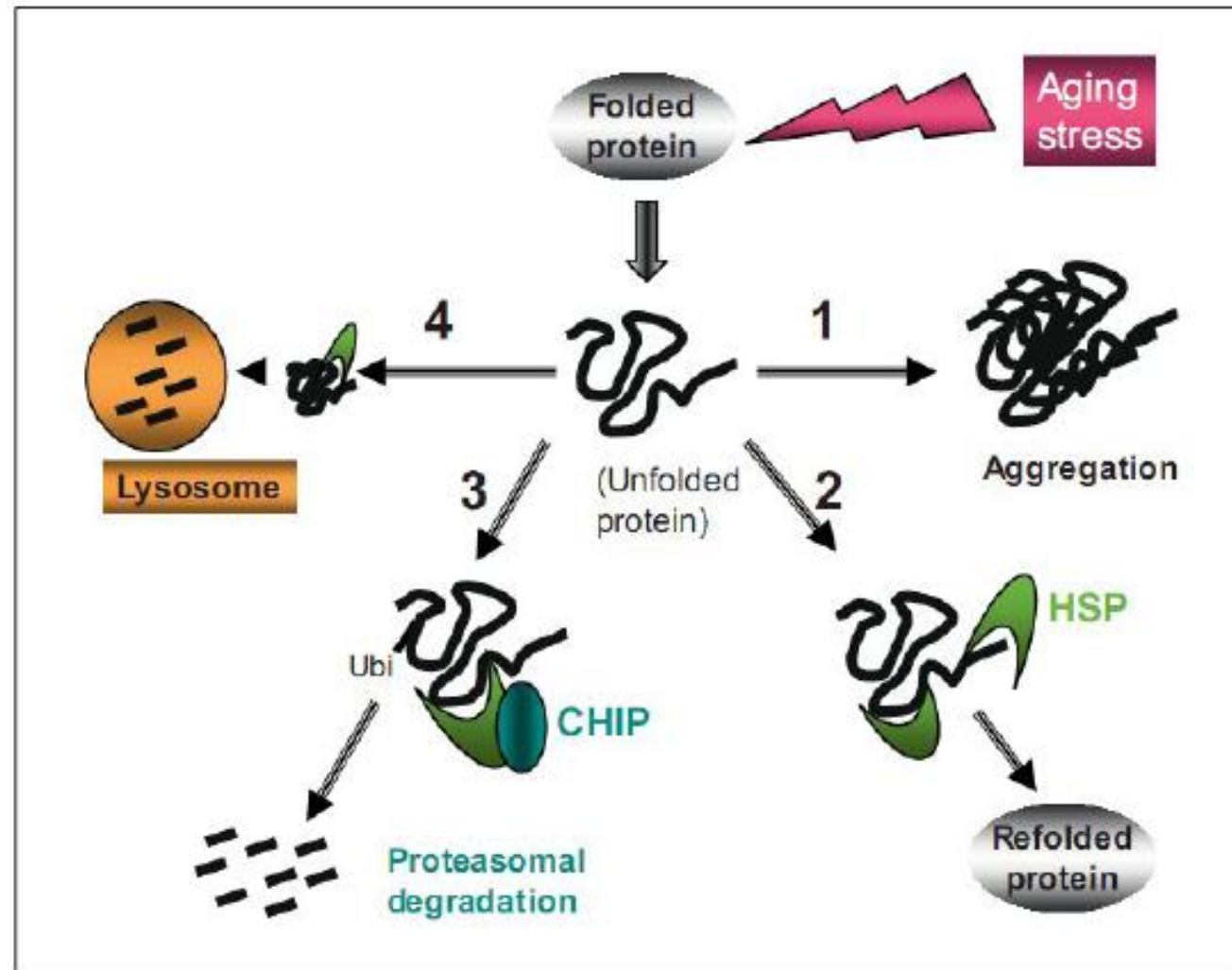
Yoshinori Ohsumi

Prize share: 1/1

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2016 was awarded to Yoshinori Ohsumi *"for his discoveries of mechanisms for autophagy"*.

Chaperones Moleculares

Recuperação vs Degradação



Autofagia

Em homeostasia, este processo é **altamente regulado** – os componentes celulares são especificamente **marcados** para degradação lisossomal. Este processo está envolvido na degradação de **organelos obsoletos ou disfuncionais**, de **proteínas misfolded ou agregadas**, e de **proteínas com tempo de semi-vida longo**.

Manutenção da **homeostasia** metabólica em condições de **carência crônica de nutrientes** (“starvation”): grandes porções do citosol são capturadas por autofagossomas de forma **não-selectiva**. O catabolismo das macromoléculas contribui para a sobrevivência da célula.

A autofagia também tem um papel no **desenvolvimento** (reestruturação de células diferenciadas) e na **saúde** (resposta imune, defesa contra vírus e bactérias).

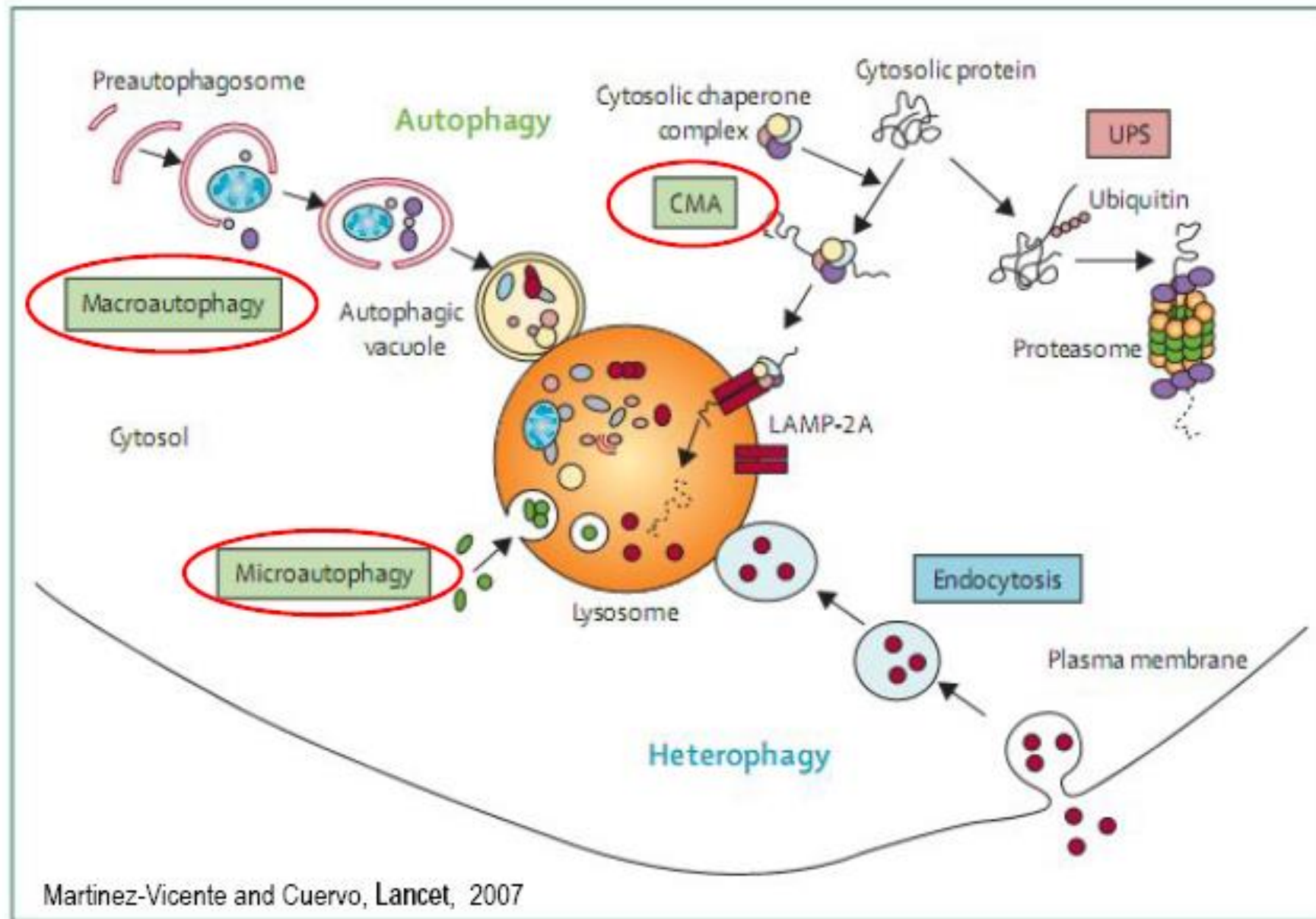
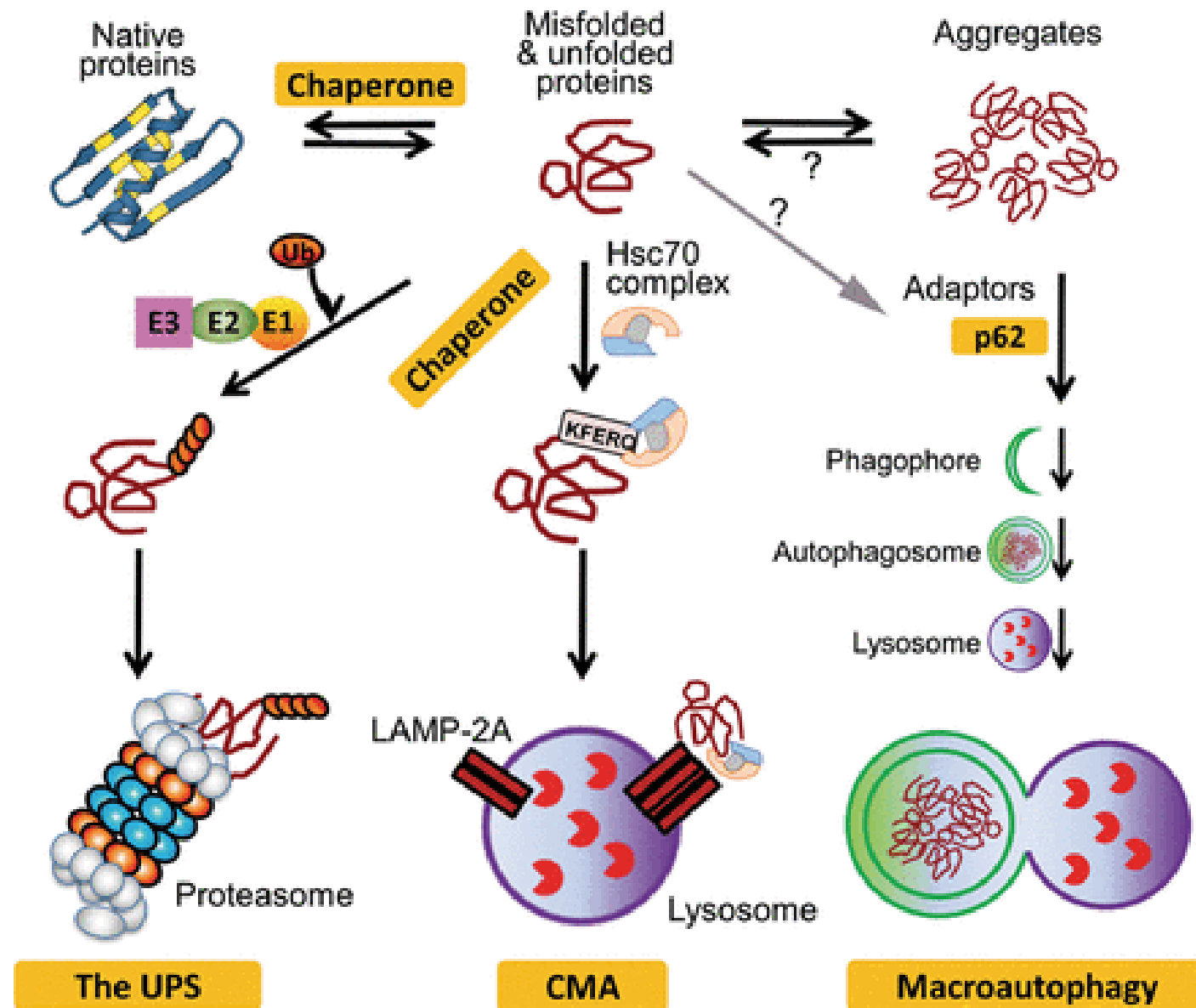
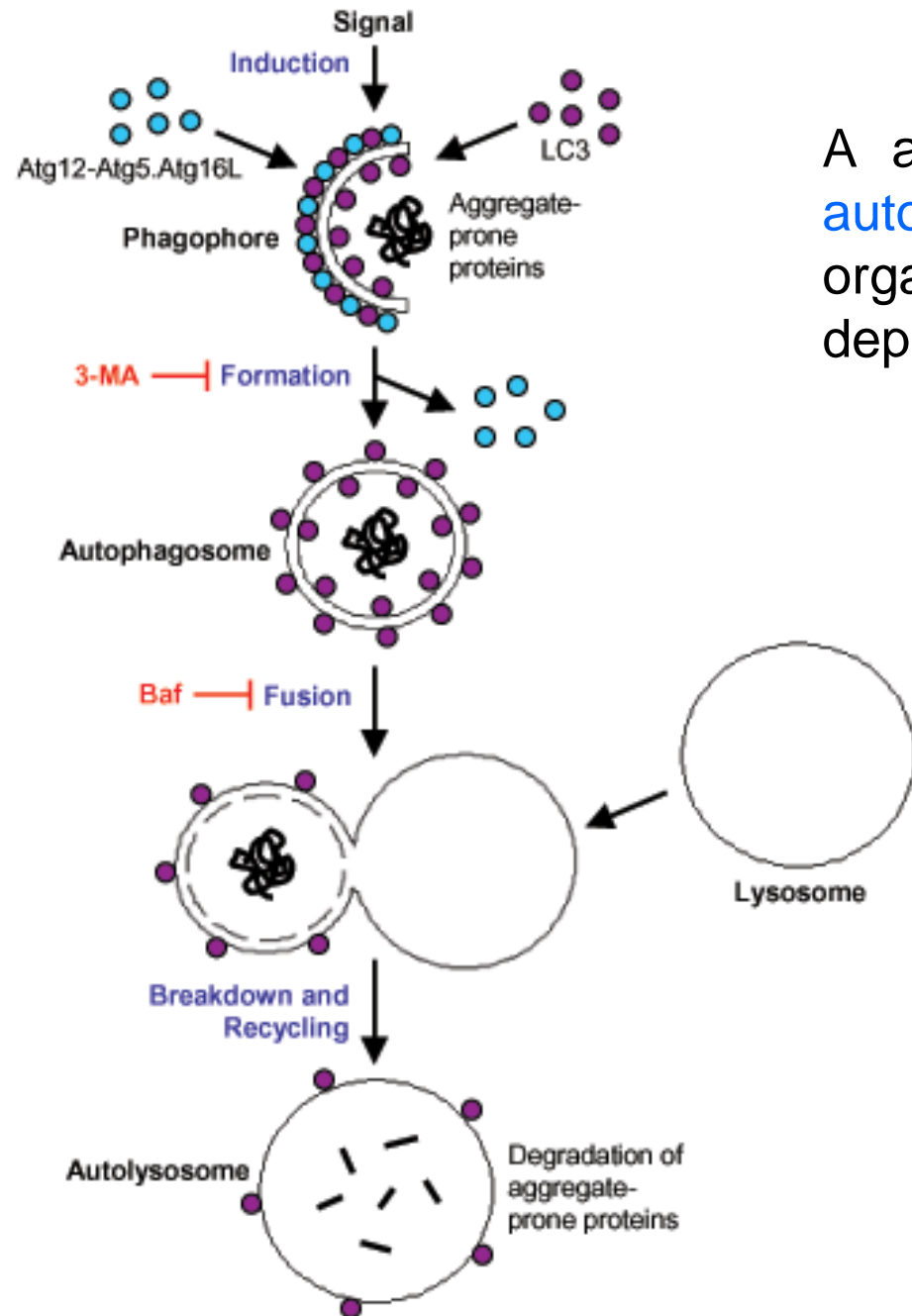


Figure 1. **Proteolytic systems in mammalian cells.** Substrate proteins are delivered to lysosomes from the extracellular media (**heterophagy**) or from inside the cell (**autophagy**). The best described heterophagic pathway is endocytosis. Three different types of autophagy have been described in mammalian cells: **macroautophagy**, **microautophagy**, and **chaperone-mediated autophagy (CMA)**. In macroautophagy intracellular components are sequestered by a limiting membrane to form an autophagic vacuole that then fuses with lysosomes. In microautophagy, substrates are directly internalised through invaginations of the lysosomal membrane. In contrast to this “in-bulk” degradation, in CMA, selective substrate proteins are translocated into the lysosomes one by one after binding to a **lysosomal receptor (LAMP-2A)**. The ubiquitin-proteasome system (UPS) is the other major pathway for degradation of intracellular proteins inside cells. Substrates are tagged with a small protein (ubiquitin) that is recognised by the proteasome, the protease of this pathway.



An illustration of protein quality control in the cell. Chaperones help fold nascent polypeptides, unfold misfolded proteins and refold them, and channel terminally misfolded proteins for degradation by the ubiquitin-proteasome system (UPS) or chaperone-mediated autophagy (CMA). When escaped from targeted degradation, misfolded proteins form aggregates via hydrophobic interactions. Aggregated proteins can be selectively targeted by macroautophagy to, and degraded by, the lysosome. hsc indicates heat shock cognate 70; and LAMP-2A, lysosome-associated membrane protein 2A.

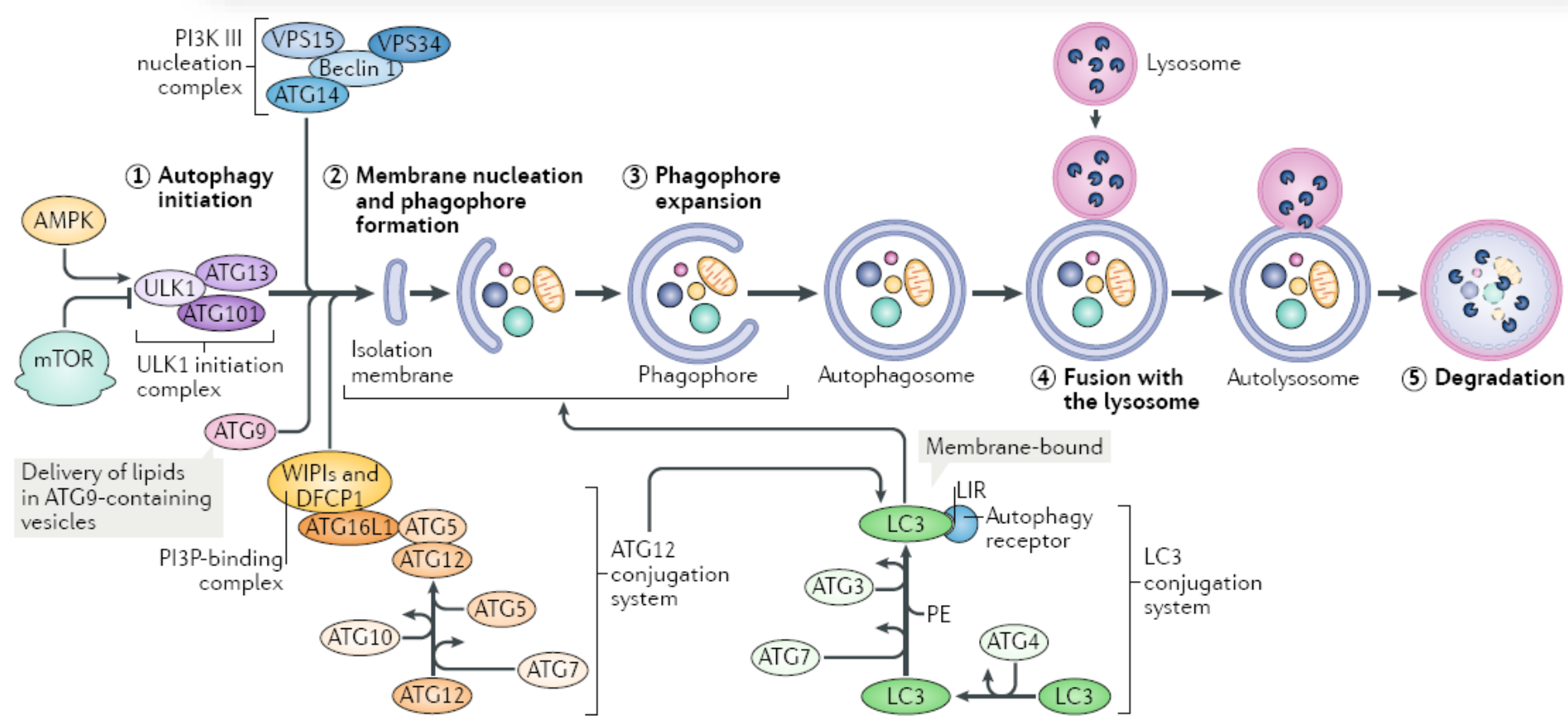
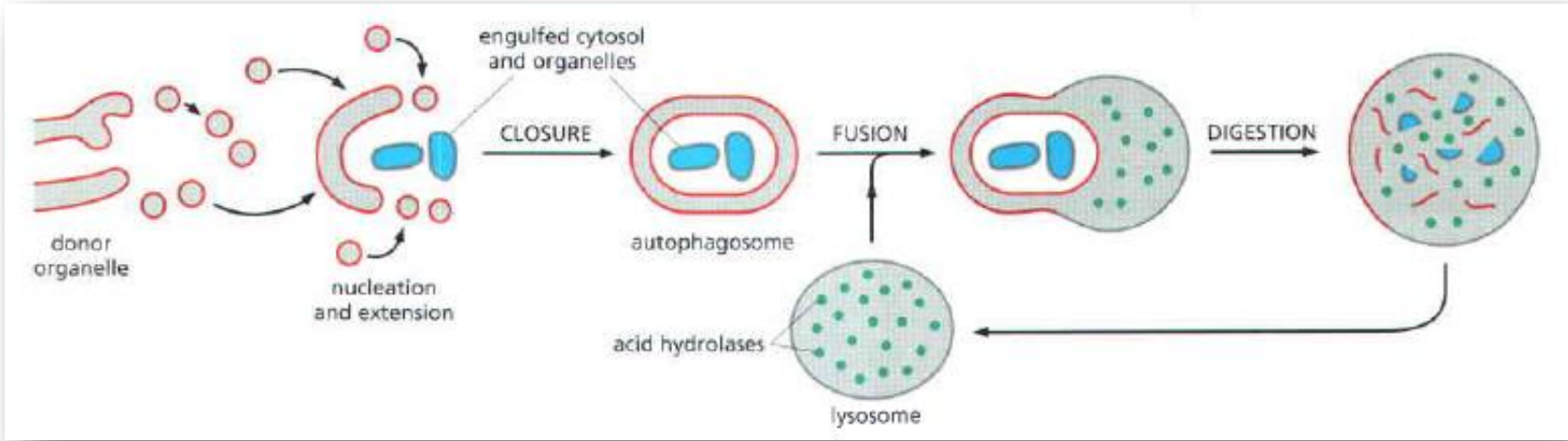
The mammalian autophagy-lysosomal pathway



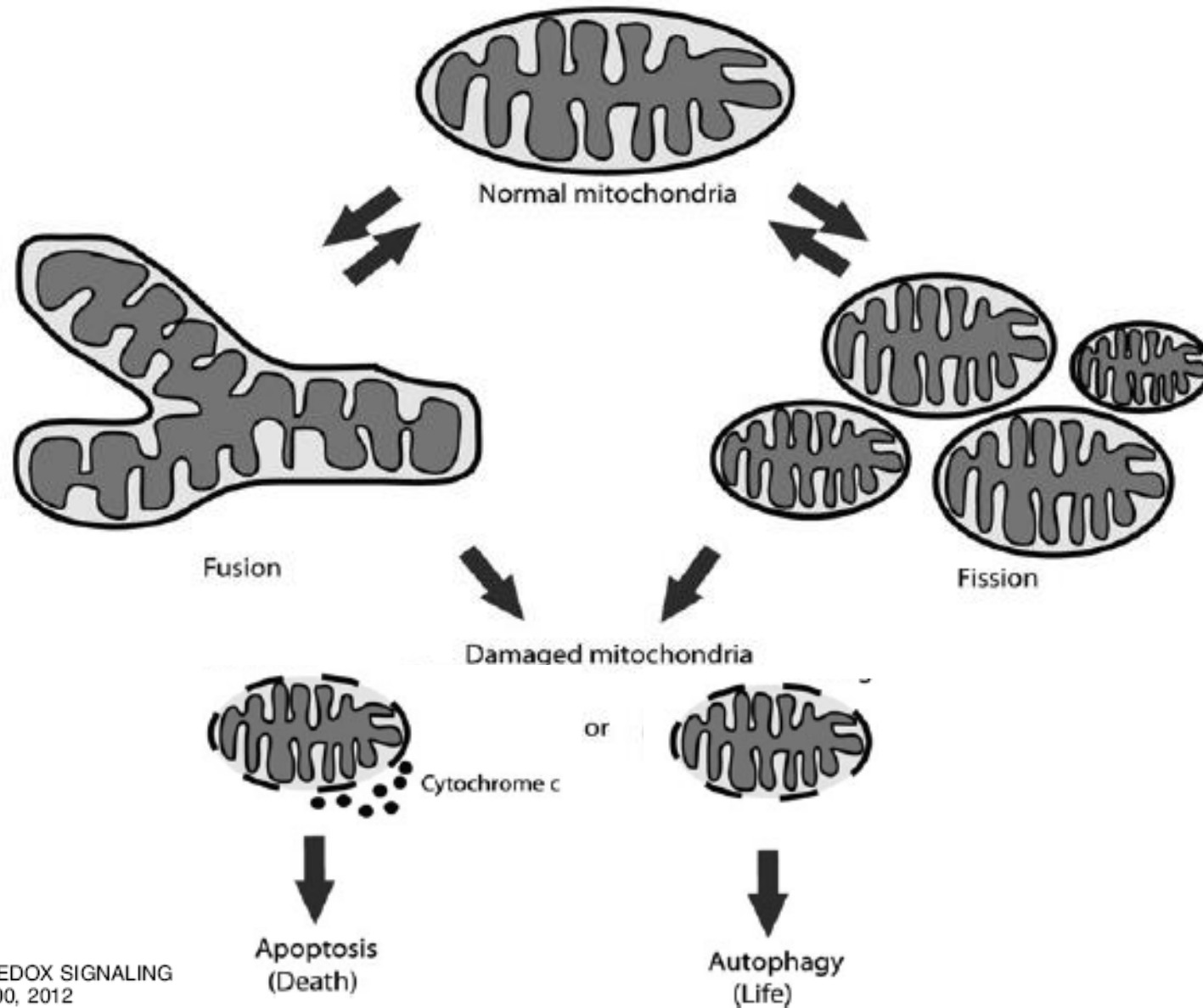
A autofagia começa com a formação do **autofagossoma** (envolvimento de um organelo por uma membrana dupla), o qual depois se funde com um lisossoma.

Autofagossoma
+
Lisossoma
↓
Autolisossoma

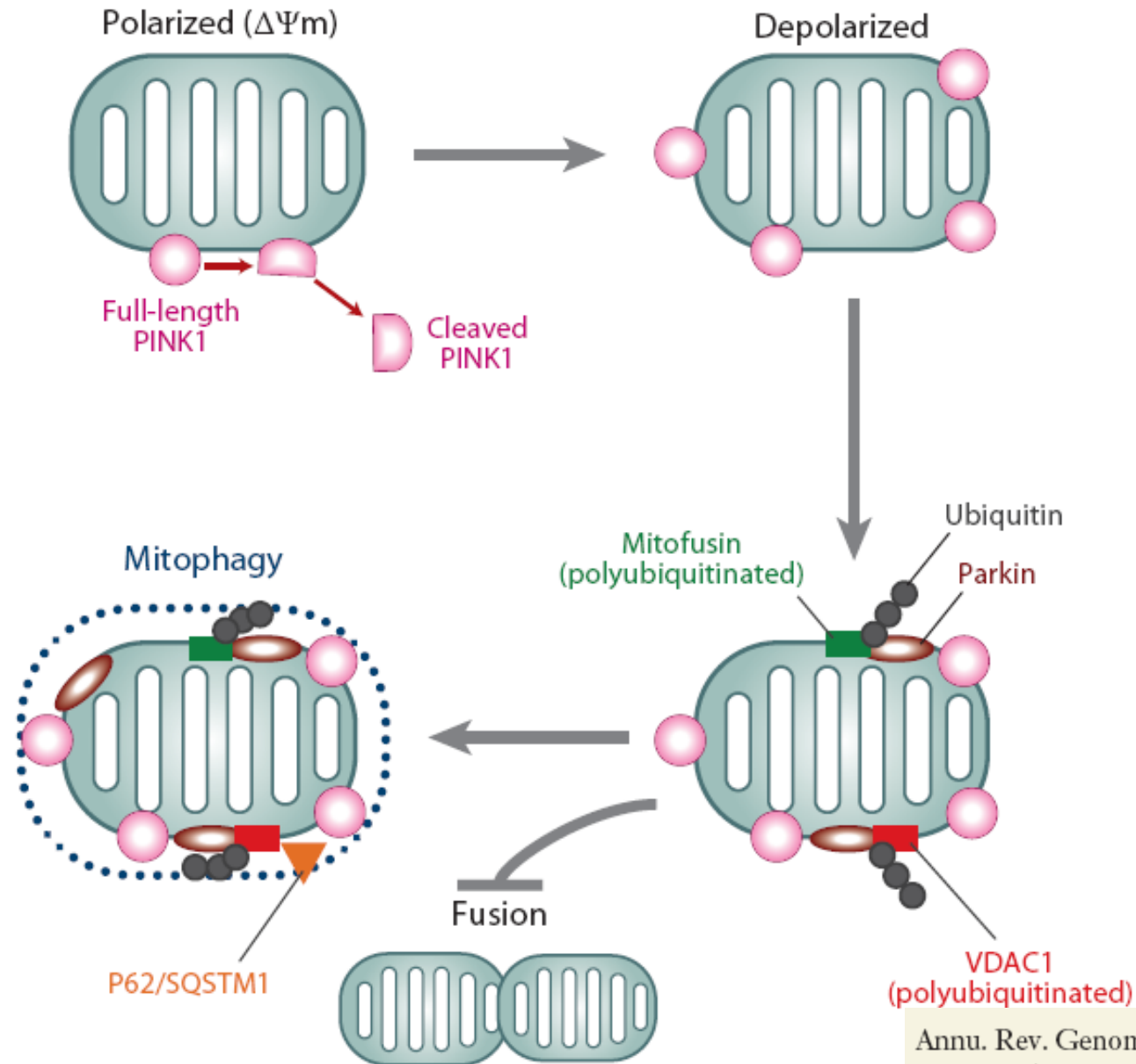
The macroautophagy process.



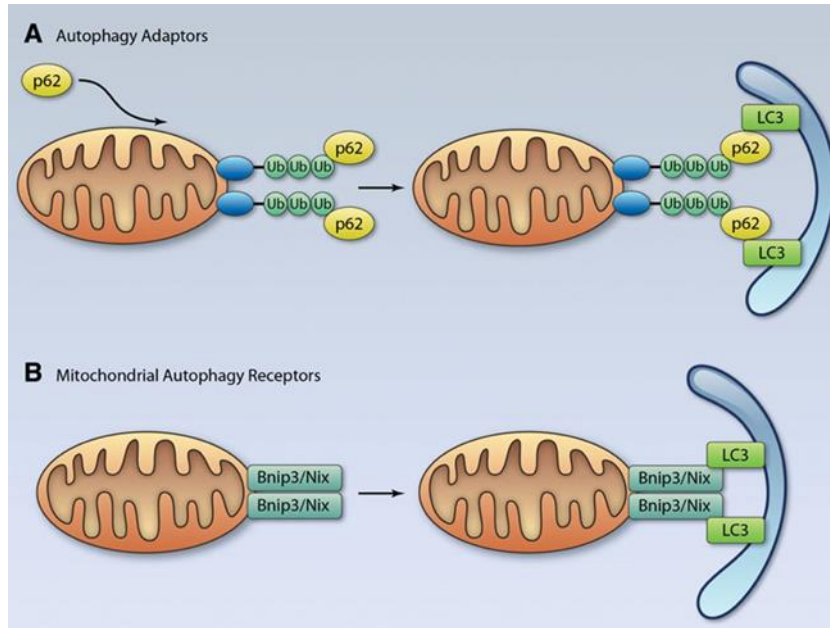
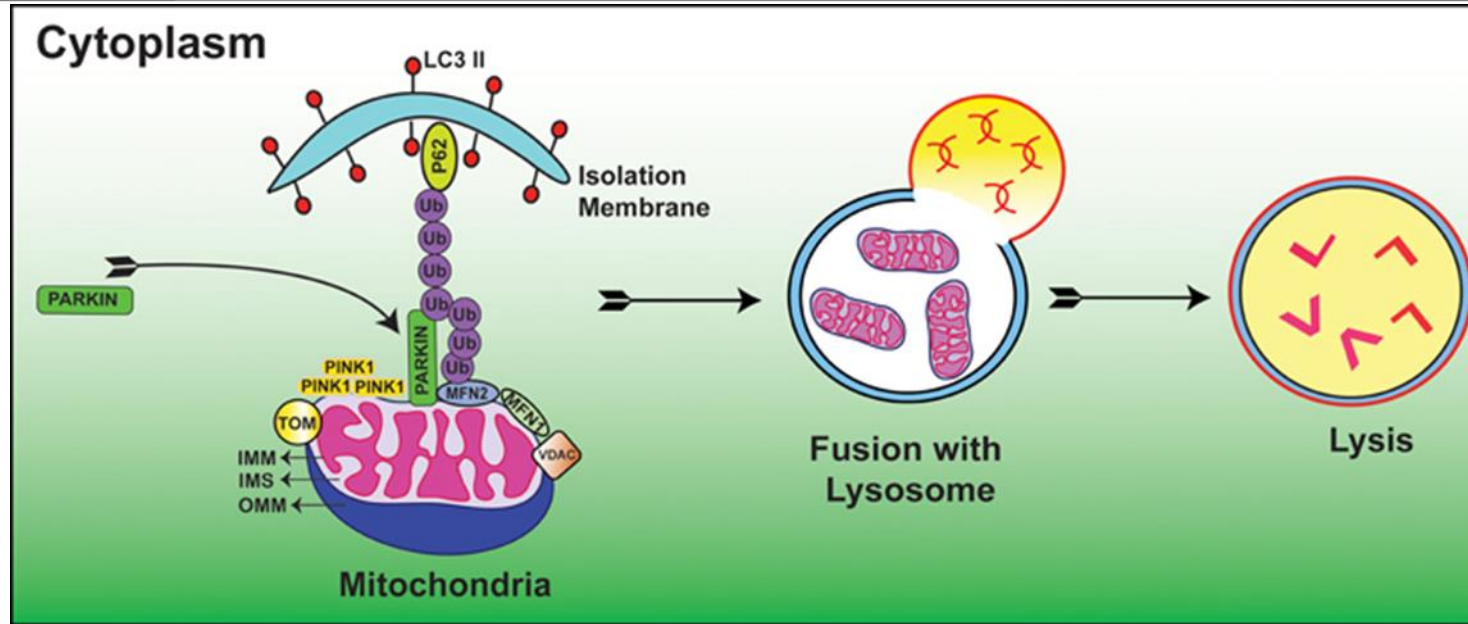
Mitochondrial turnover and cell faith



Parkin/PINK1 dependent mitophagy

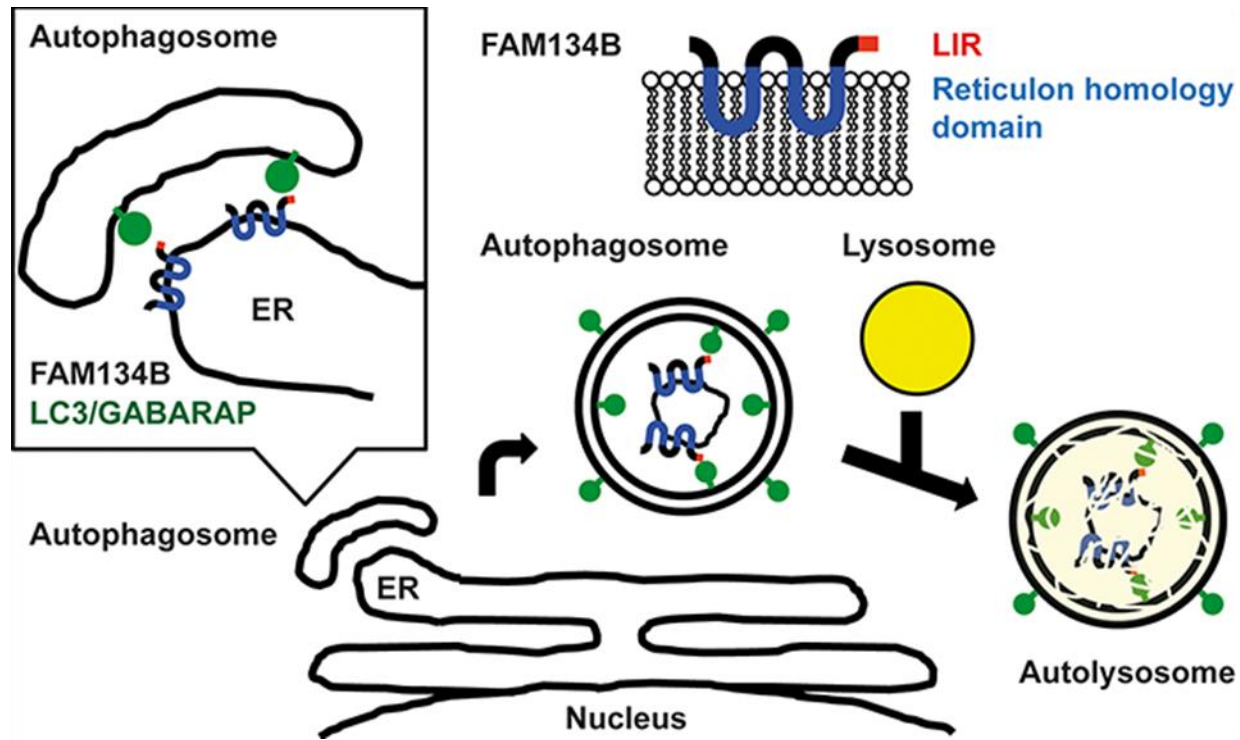


Mechanisms of Mitophagy



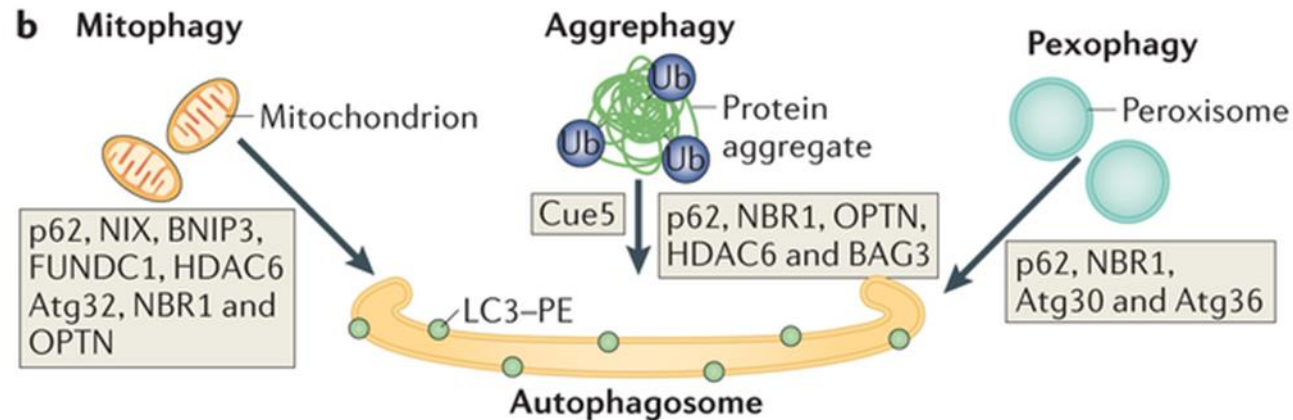
Frontiers in Physiology | Mitochondrial Research
December 2013 | Volume 4 | Article 384

Circulation Research.
2012;111:1208-1221



MACROAUTOPHAGIA ER-PHAGY

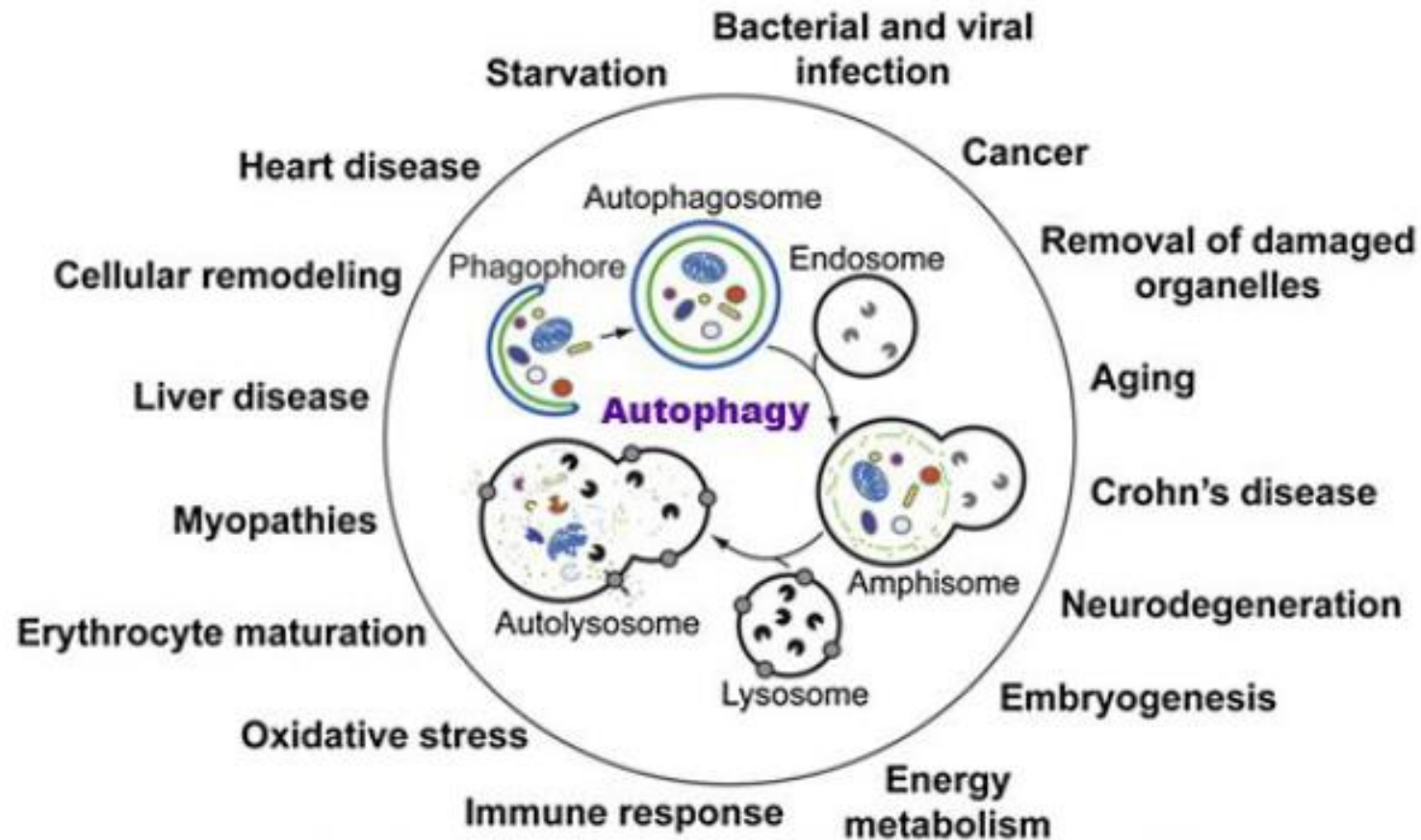
Autophagy-receptor-for-endoplasmic-reticulum-turnover. Diamond Annual Rev 2016



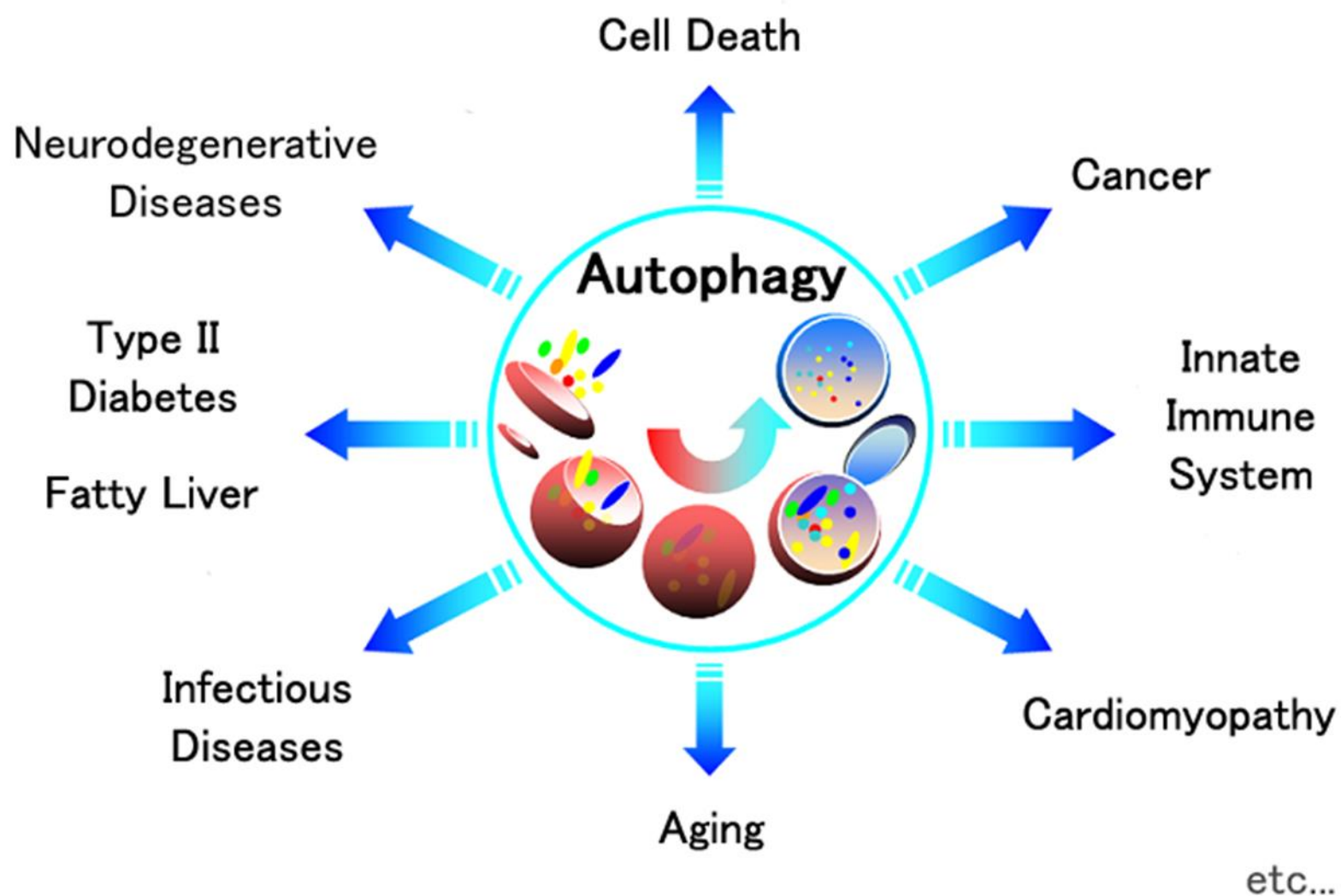
MACROAUTOPHAGIA PEXOPHAGY AGGREPHAGY MITOPHAGY

Autofagia e Patologia

Quando as vias de degradação falham...



Klionsky DJ. The autophagy connection. *Developmental Cell* 19:11-12 (2010)



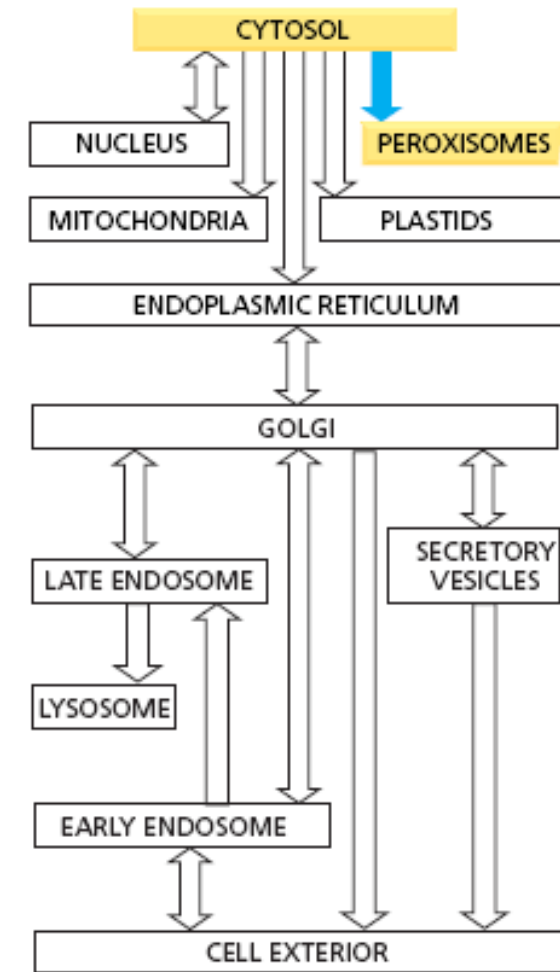
Classification and treatment of disorders of autophagy

Condition	Impairment	Pathway or stage of autophagy	Potential pharmacological treatment
Lafora disease	Loss-of-function mutation in <i>EPM2A</i> ³⁷	Initiation	Rapamycin
Huntington disease	Expanded polyglutamine domain of huntingtin protein ⁴²	Cargo recognition	Rapamycin, rilmenidine, clonidine, carbamazepine, valproate
Frontotemporal dementia	Mutations in <i>CHMP2B</i> ^{49,50}	Maturation	Unknown*
Amyotrophic lateral sclerosis	Mutations in <i>DCTN1</i> and <i>DNCHC1</i> ⁴³⁻⁴⁶	Maturation	Unknown*
Lysosomal storage disorders	Dysfunction of lysosomal hydrolases and other lysosomal proteins ⁵⁴	Lysosomal fusion and clearance	Unknown*
Familial Alzheimer disease	Mutation in <i>PSEN1</i> , <i>PSEN2</i> and <i>APP</i> ⁵⁶⁻⁶¹	Lysosomal fusion and clearance	Unknown*
Parkinson disease	Mutations in <i>PINK</i> and <i>PARK</i> ⁷⁰⁻⁷⁷	Mitophagy	Unknown

*Upregulation of autophagy might be unwise in patients who have defective autophagosome degradation.

Peroxisissomas

Os **peroxissomas** são pequenos organelos esféricos envolvidos por **membrana simples**.

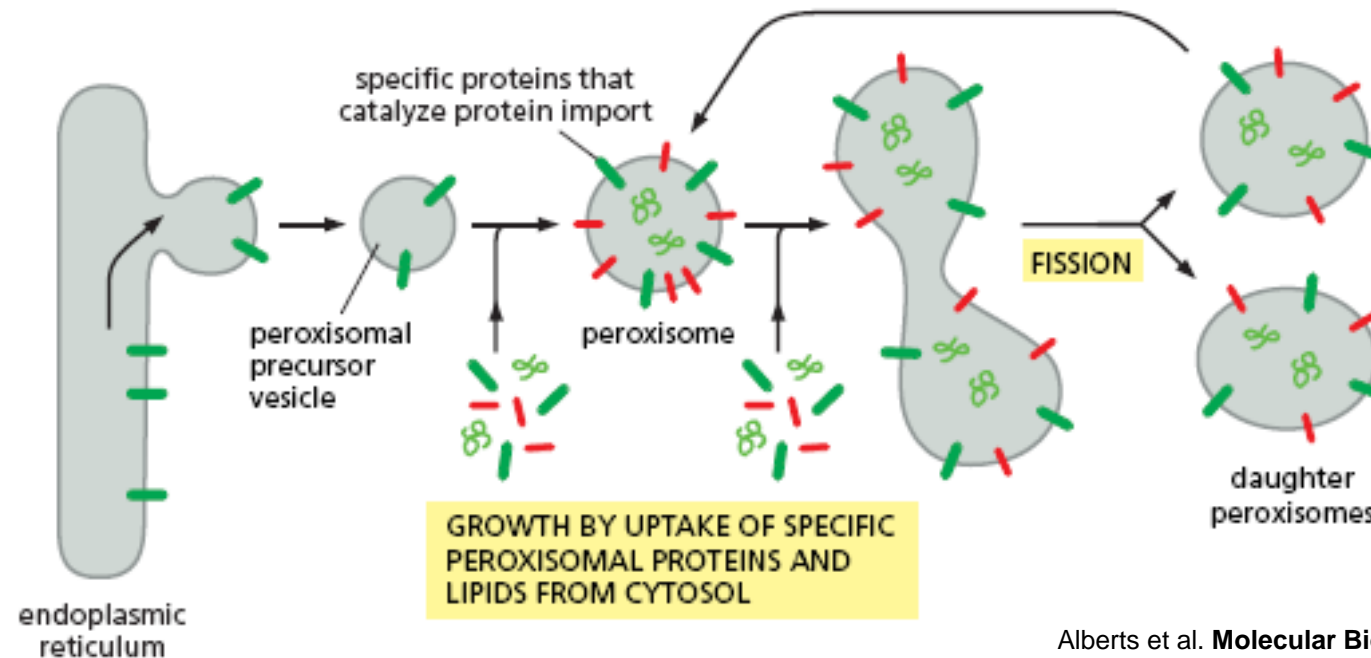


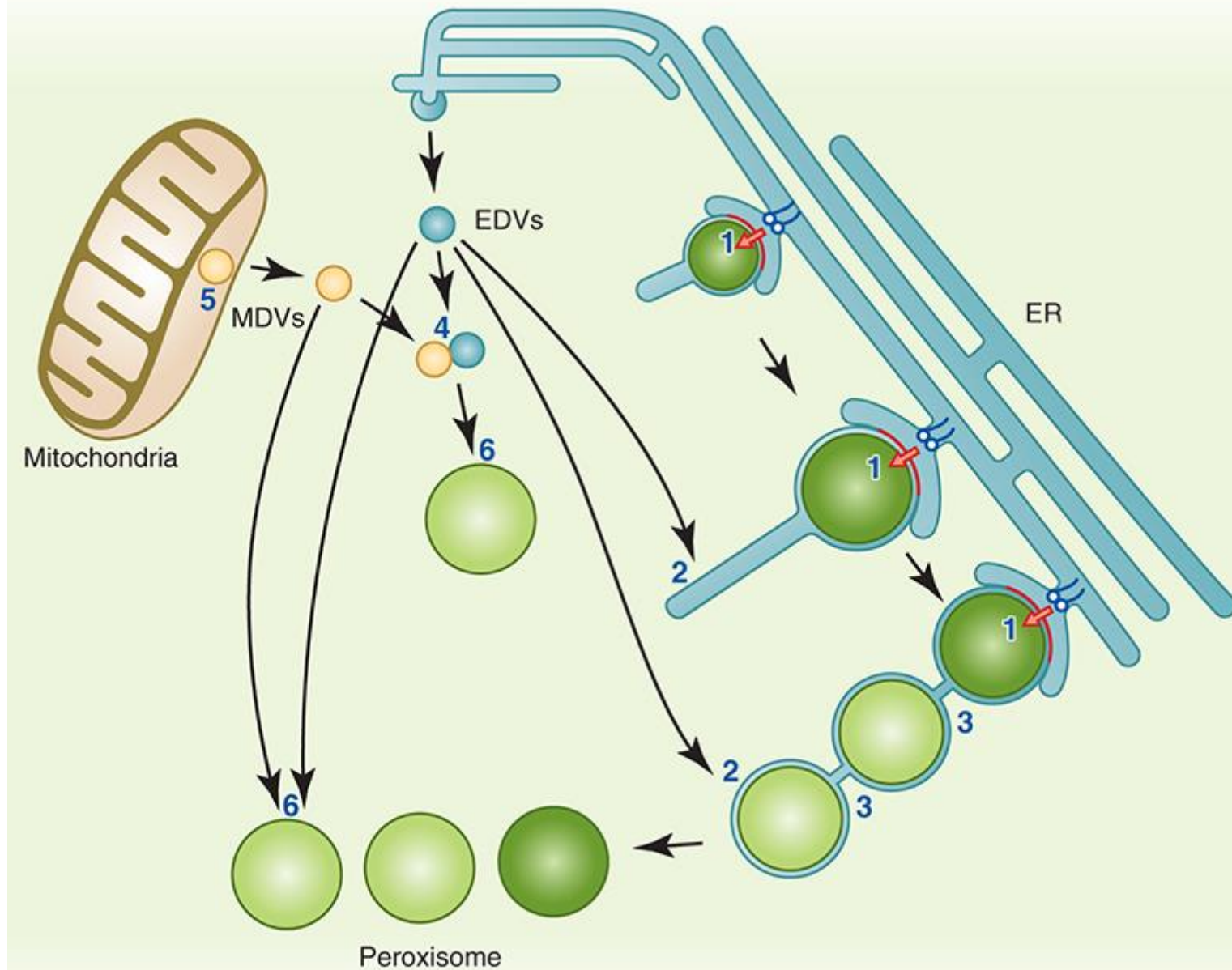
As proteínas peroxissomais são codificadas no núcleo, e a maioria é especificamente importada para este organelo a partir do **citossol**. Algumas proteínas entram na membrana do peroxissoma **provenientes do ER**.

Pensa-se que as **vesículas precursoras** dos peroxissomas se **destacam do ER**. A maquinaria envolvida no destacamento, e o processo de seleção de apenas proteínas peroxissomais contidas nessas vesículas ainda não são conhecidos. Sabe-se apenas que **algumas proteínas peroxissomais** são, numa 1ª fase, integradas na **membrana do ER**.

Na biogénese de peroxissomas, novas vesículas precursoras **fundem-se entre si** e começam a **importação de outras proteínas peroxissomais** adicionais, a partir do citosol, utilizando para tal a sua própria maquinaria de importe de proteínas –**peroxissomas maduros**.

De seguida, os peroxissomas podem entrar num ciclo de crescimento de fissão, aumentando o nº de organelos da célula.



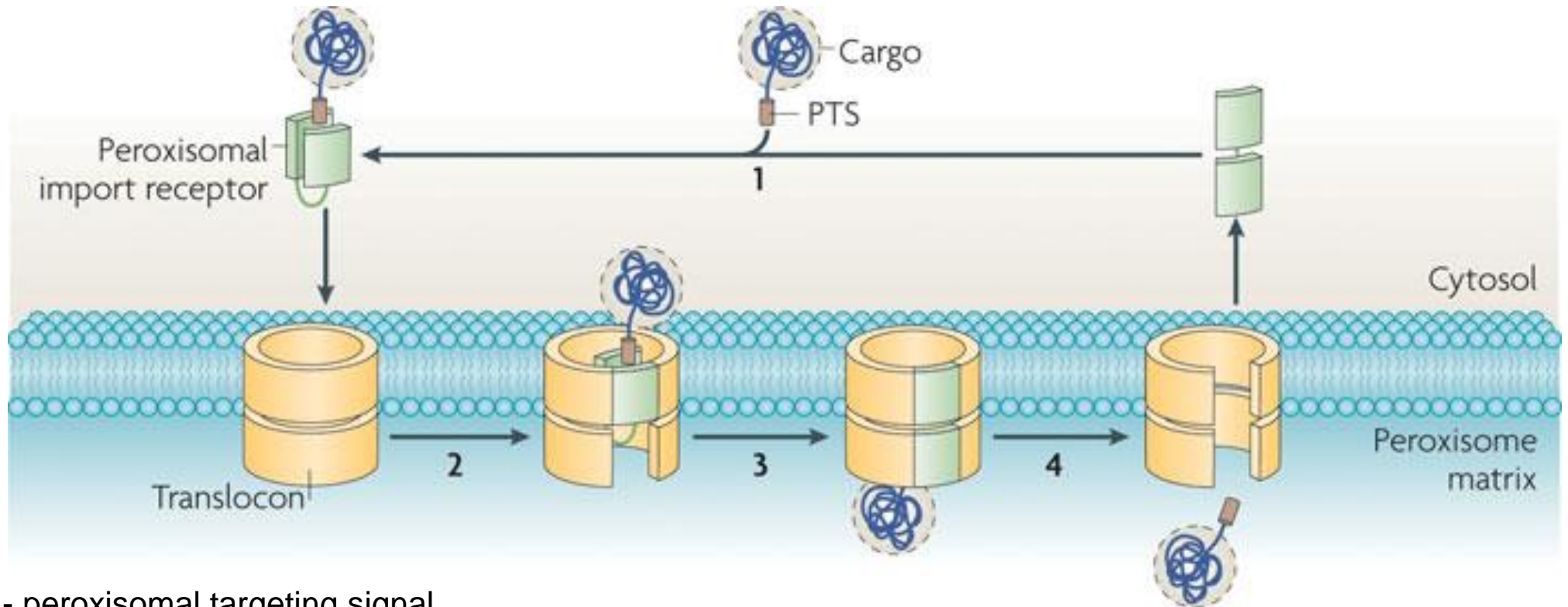


Two routes for peroxisome formation.

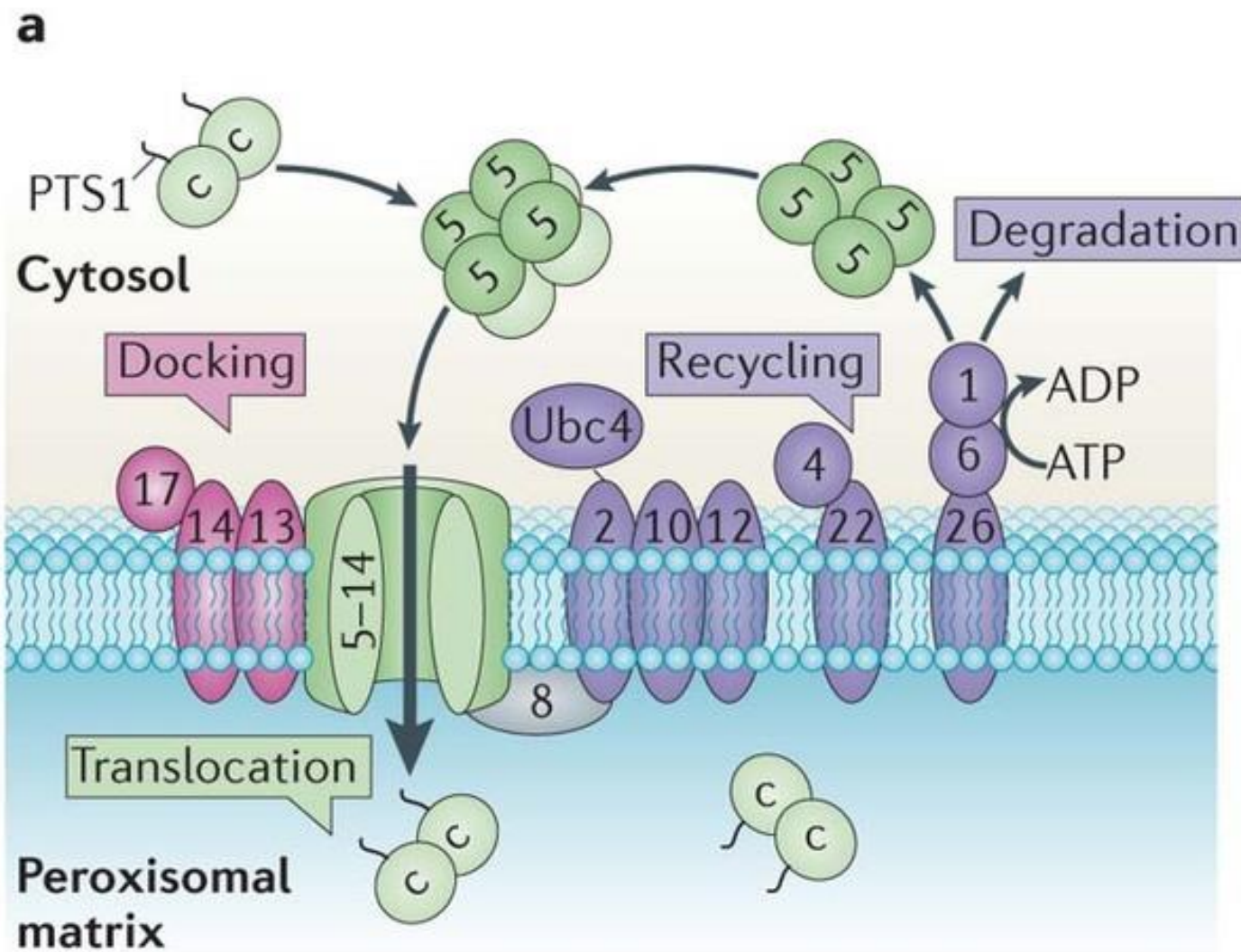
Path 1 is based on growth and division of existing peroxisomes (dark green). These grow in size as (1) the ER supplies new phospholipids (red arrows) and (2) ER-derived vesicles (EDV) fuse with the growing peroxisomes until they divide (3) to generate new peroxisomes (light green). Path 2 relies on fusion of ER-derived vesicles (4) with mitochondria-derived vesicles (5) to create brand-new peroxisomes (6).

A maioria das proteínas dos peroxissomas provém do [citósol](#). Nestas, sequências específicas localizadas na extremidade C-terminal ou N-terminal funcionam como um [sinal de importação](#).

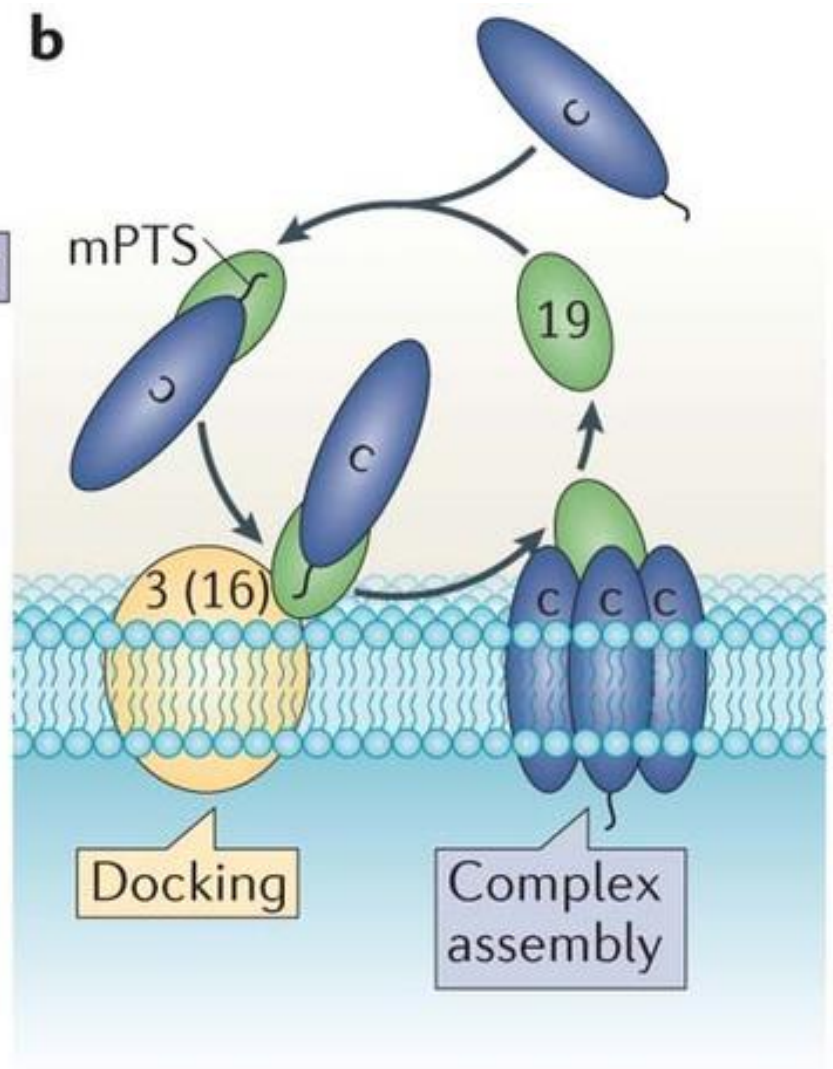
Se a sequência se encontra numa proteína citosólica, esta é importada para os peroxissomas num processo ainda não totalmente esclarecido. Sabe-se que envolve as [proteínas translocadoras peroxinas](#) e envolve [hidrólise de ATP](#).



Export-driven import into peroxisomes, a new mode of ATP-dependent protein translocation across a membrane



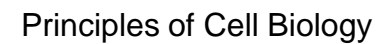
a | Import of matrix proteins into peroxisomes.



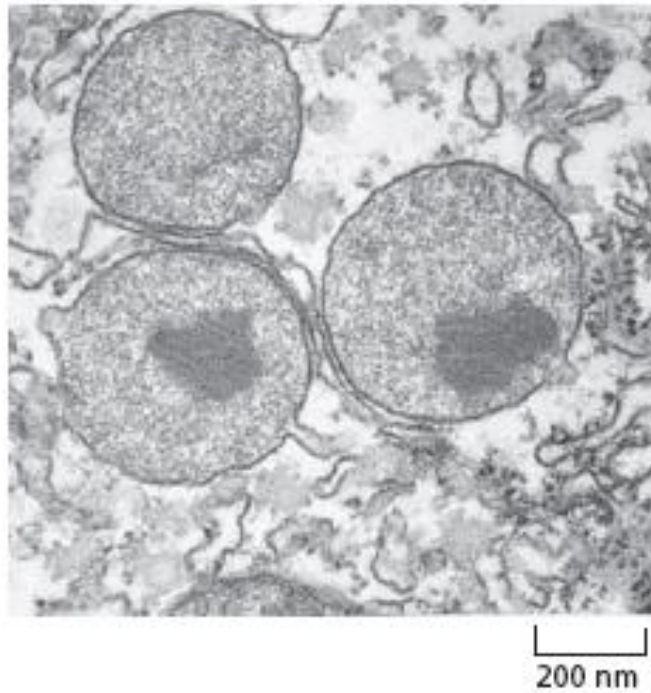
b | Import of membrane proteins into peroxisomes.

PTS - peroxisomal targeting signal

PTS = peroxisomal targeting signal;
mPTS = membrane peroxisomal targeting signal;
PMP = peroxisomal membrane protein;
Ub = ubiquitin.



Peroxisissomas



Alberts et al. Molecular Biology of the Cell 5th Ed

Todas as células eucariotas têm peroxissomas, que contêm **enzimas oxidativas**, tais como a catalase, em **altas concentrações**.

Tal como as mitocôndrias, os peroxissomas são os locais principais de **utilização do oxigénio**.

Os peroxissomas podem ser um vestígio de **organelos primordiais** que realizavam o **metabolismo do oxigénio em células eucariotas primitivas**.

O desenvolvimento posterior das mitocôndrias tornou os peroxissomas **obsoletos** porque muitas das mesmas reacções foram agora acopladas à formação de ATP pela fosforilação oxidativa.

Actualmente, nos peroxissomas ocorrem reacções de oxidação que não têm lugar nas mitocôndrias.

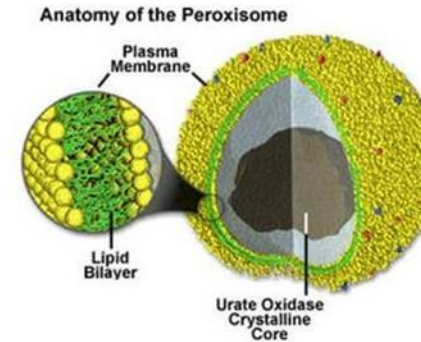
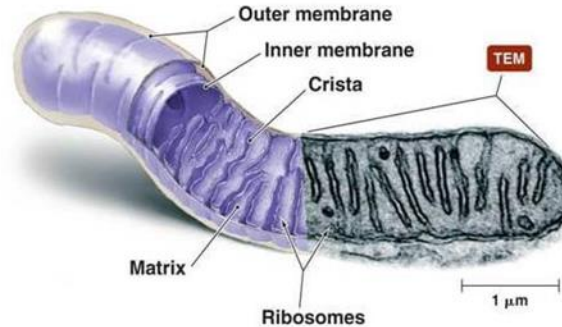
Oxygen: Friend or Foe?

Mitochondrion

vs

Peroxisome

Major place of oxygen metabolism in eukaryotic cells
Oxygen utilization with energy production

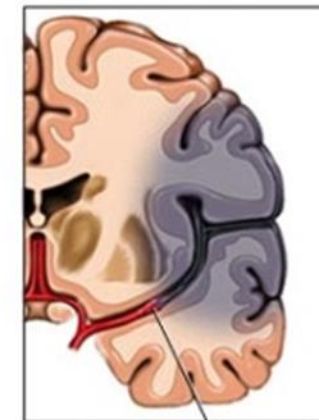


Major place of oxygen metabolism in primitive aerobic eukaryotic cells (ancient organelle)
Oxygen utilization without energy production

Hypoxic Conditions

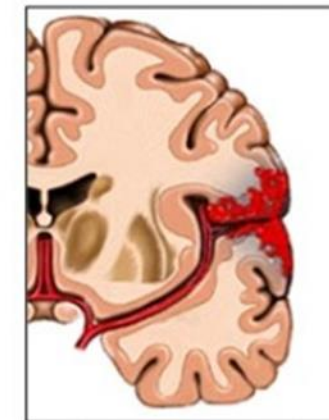


Ischemic stroke



A clot blocks blood flow to an area of the brain

Hemorrhagic stroke



Bleeding occurs inside or around brain tissue



Symptoms of **Oxygen toxicity**

Eyes

- Visual field loss
- Near-sightedness
- Cataract formation
- Bleeding
- Fibrosis

Central

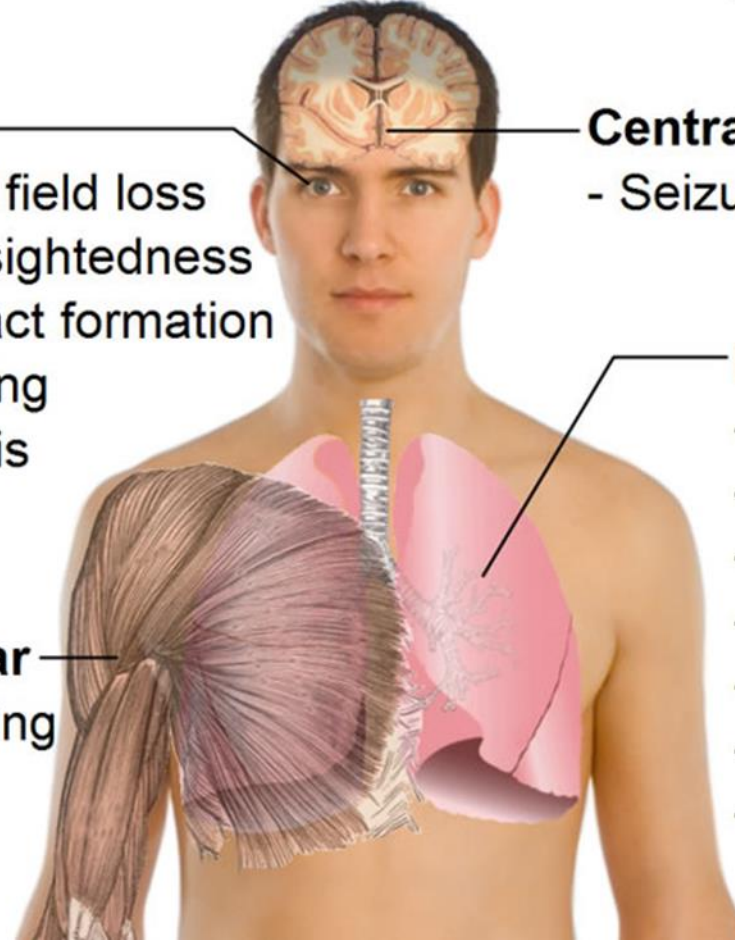
- Seizures

Respiratory

- Jerky breathing
- Irritation
- Coughing
- Pain
- Shortness of breath
- Tracheobronchitis
- Acute respiratory distress syndrome

Muscular

- Twitching

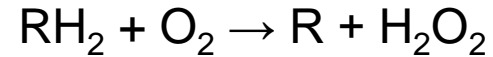


Oxygen toxicity:

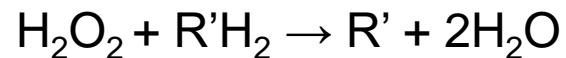
Is a condition resulting from the harmful effects of breathing molecular oxygen (O₂) at increased partial pressure

Effect of hyperoxia

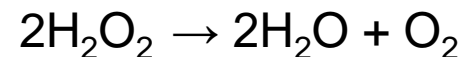
Os peroxissomas são assim chamados porque contêm uma ou mais **enzimas** que utilizam oxigénio molecular para **remover átomos de hidrogénio** a partir de **substratos orgânicos específicos** (R), numa **reacção de oxidação** que produz **peróxido de hidrogénio** (H_2O_2).



A **catalase** usa o H_2O_2 gerado para oxidar uma variedade de outros substratos (fenóis, ácido fórmico, formaldeído, álcool, ...). Esta reacção é particularmente importante nas células de fígado e rim, nas quais os peroxissomas desintoxicam várias moléculas tóxicas que entram na corrente sanguínea (~ 25% de etanol que bebemos é oxidado a acetaldeído desta forma).



Quando se acumula excesso de H_2O_2 na célula, a catalase converte-o em H_2O



Uma das funções principais das reacções de oxidação realizadas pelos peroxissomas é a **quebra de moléculas de ácido gordo**.

A **beta-oxidação** dos ácidos gordos também ocorre em peroxissomas quando as cadeias de ácidos gordos são muito longas para serem utilizadas pelas mitocôndrias. As mesmas enzimas são utilizadas para este fim nos peroxissomas e na matriz mitocondrial. No final do processo é gerada **acetil-CoA**.

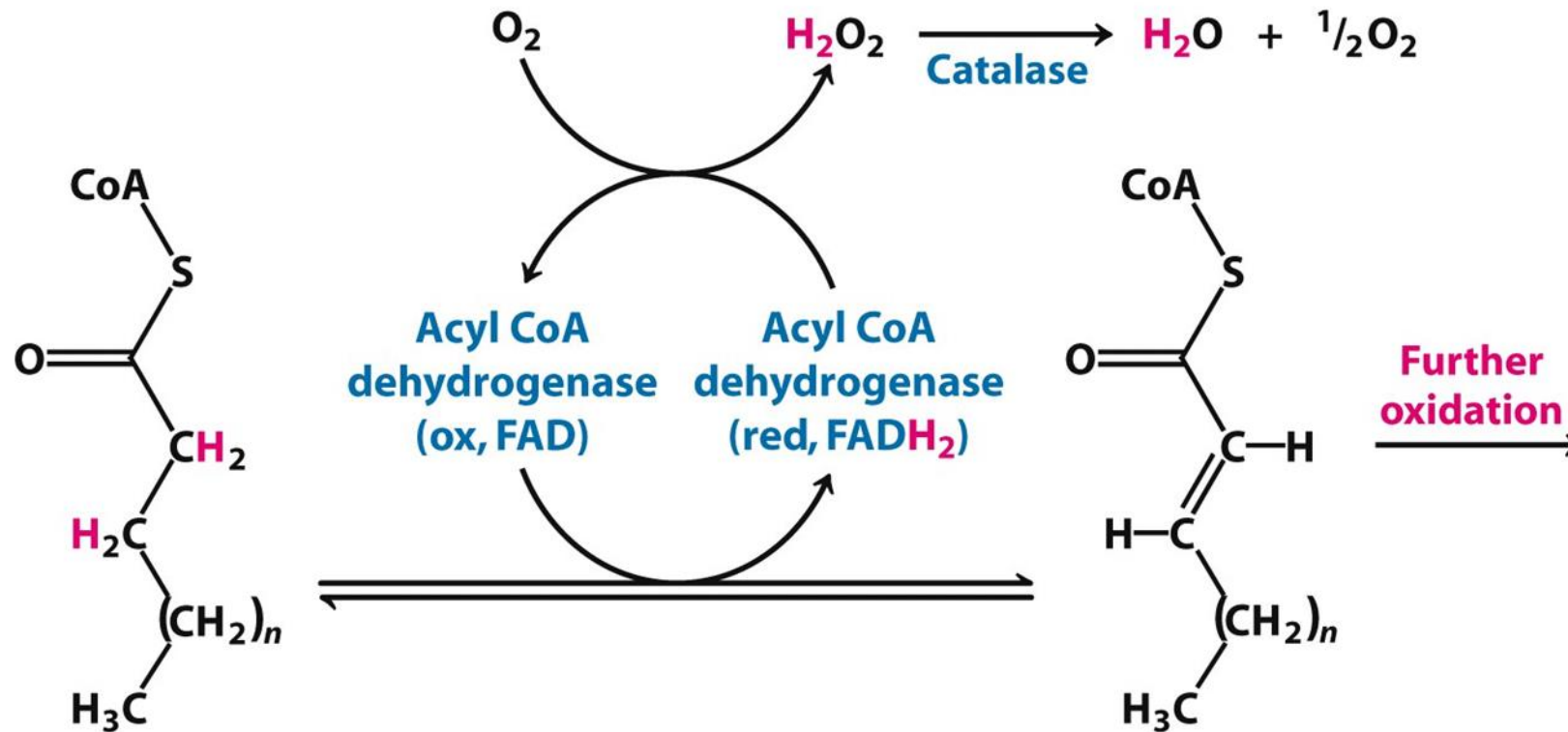
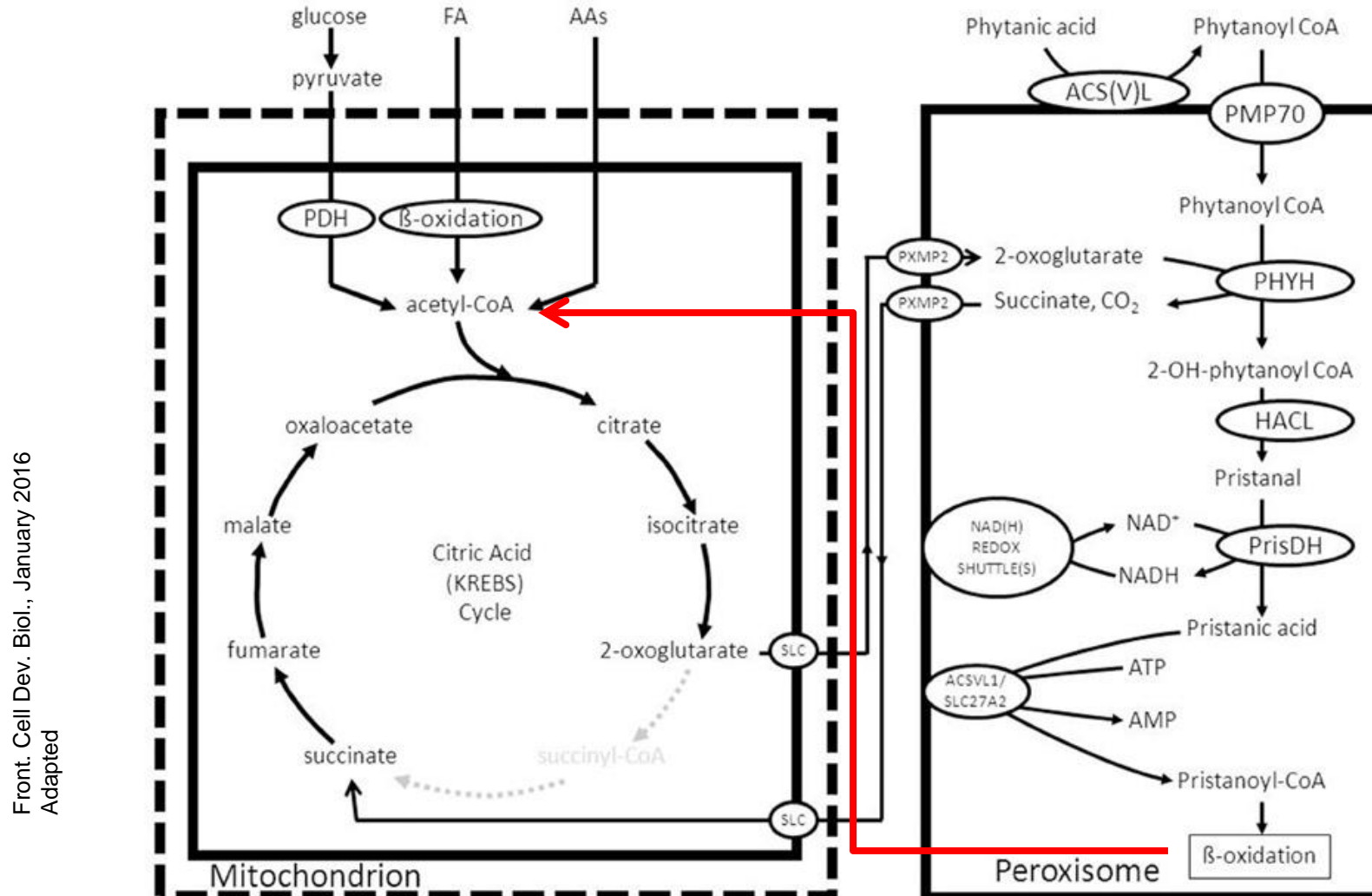
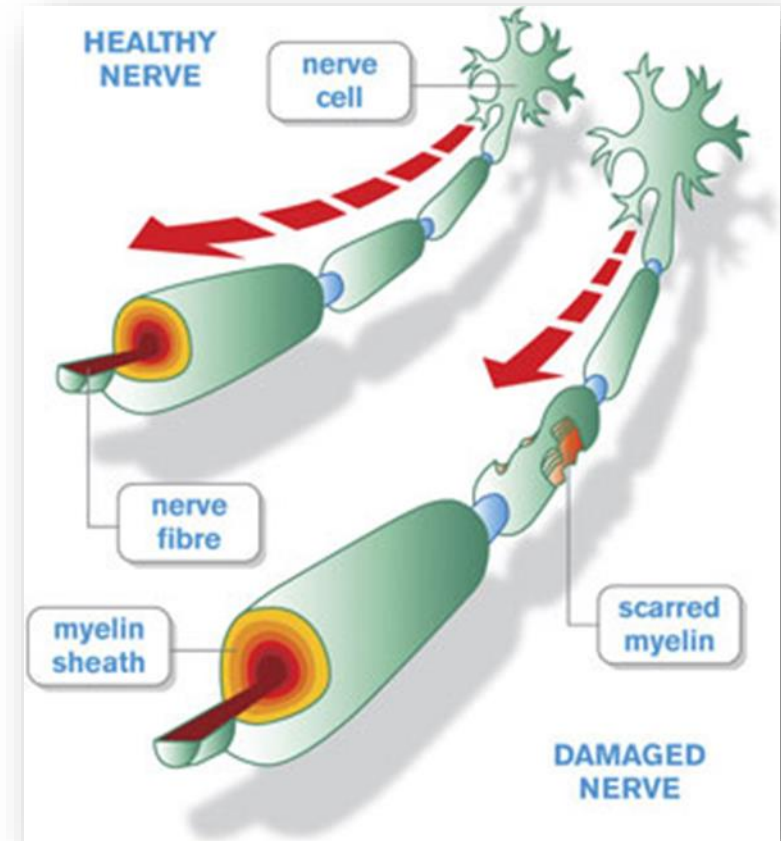
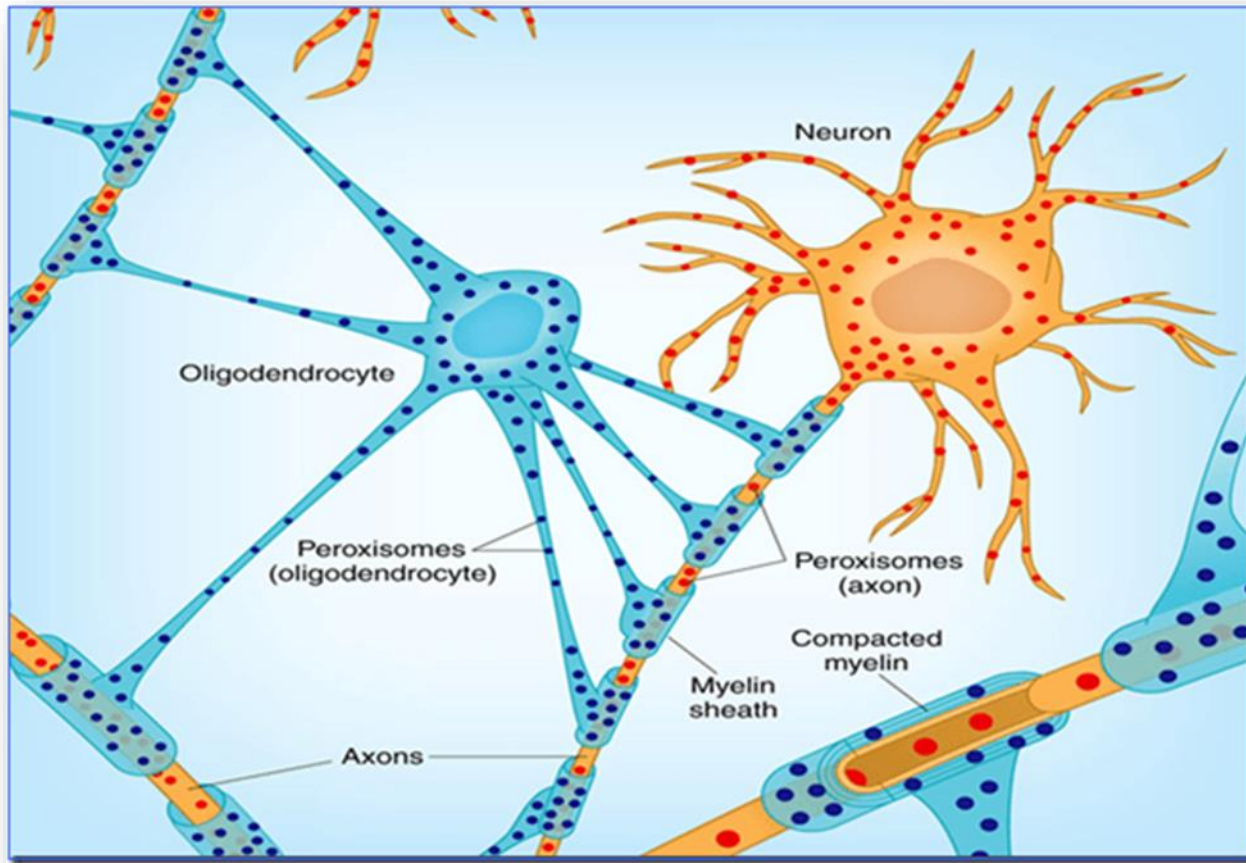


Figure 22.20
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

Os peroxissomas **exportam a acetil CoA** para o citosol, que a utiliza em reacções biossintéticas e metabólicas.

Nos mamíferos, a β oxidação ocorre nas mitocôndrias e peroxissomas; nas leveduras e plantas, ocorre exclusivamente nos peroxissomas.





Uma função biossintética essencial dos peroxissomas das células animais é catalizar as 1^{as} reacções da formação de **plasmalogénios**, que são a classe de **fosfolípidos mais abundante na mielina**.

Deficiências em plasmalogénios causam **profundas anomalias na mielinização** dos axónios dos neurónios, razão pela qual muitas patologias envolvendo má disfunção dos peroxissomas conduzem a **doenças neurológicas**.

Lisossomas e peroxissomas

Lisossomas e peroxissomas:

<https://www.khanacademy.org/test-prep/mcat/cells/eukaryotic-cells/v/lysosomes-and-peroxisomes>

Lisossomas:

<https://www.youtube.com/watch?v=02jrzh9m92M>

<https://www.youtube.com/watch?v=6MZN24Il5Sc>

Autofagia (Ana Maria Cuervo):

<https://www.youtube.com/watch?v=SvdaiGA9d2s>

Macroautofagia:

<https://www.youtube.com/watch?v=UmSVKzHc5yA>

Peroxisomas:

<https://www.youtube.com/watch?v=nJMwvDMwgLE>

<https://www.youtube.com/watch?v=mHNgKFrjmtM>