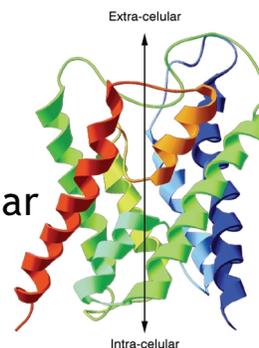


Nobel 2003.

Canais de Água e de Íons: Processos da Vida na Escala Molecular



Romeu C. Rocha-Filho

O Prêmio Nobel de Química de 2003 foi outorgado ao descobridor dos canais de água e a um estudioso da estrutura e mecanismos dos canais de íons. Este artigo relata, além de breves biografias dos dois laureados, o que são esses canais nas paredes das células e discute a importância deles para processos subjacentes à vida.

► Prêmio Nobel, canal de água, aquaporinas, canal de íons ◀

Recebido em 7/11/03, aceito em 9/11/03

O Prêmio Nobel de Química de 2003 foi outorgado pela Academia Real Sueca de Ciências por “descobertas relacionadas a canais em membranas celulares”. Metade do prêmio foi outorgada ao químico e médico Peter Agre (Univ. Johns Hopkins, em Baltimore, EUA) “pela descoberta dos canais de água” e a outra metade ao bioquímico e médico Roderick MacKinnon (Univ. Rockefeller, em Nova Iorque, EUA), “por estudos estruturais e mecânicos de canais de íons”.

Todo ser vivo é feito de células. No caso do corpo humano, elas são tantas quantas as estrelas em uma galáxia: cerca de cem bilhões. Nossas células (musculares, renais e nervosas, por exemplo) agem juntas em um complexo e delicado sistema, cujo funcionamento envolve fantástica família de engenhos moleculares, como os canais de água e os canais de íons. Como diversas doenças podem ser atribuídas ao funcionamento inadequado dos canais de água e de íons, o conhecimento na escala molecular de como eles são e funcionam tem importantes consequências médicas, pois

A seção “Atualidades em Química” procura apresentar assuntos que mostrem como a Química é uma ciência viva, seja com relação a novas descobertas, seja no que diz respeito à sempre necessária revisão de conceitos.

abre a possibilidade de se desenvolver novos fármacos mais efetivos.

A parede celular, uma membrana composta por uma bicamada de lipídeos, separa a célula de outras células e do meio extra-celular; as células também contêm organelas envoltas em membranas, como o núcleo, a mitocôndria e o cloroplasto. Normalmente, essas paredes são impermeáveis a água, íons e outras moléculas polares, mas, em muitos momentos, estas entidades têm que ser rapidamente transportadas através das membranas, em

geral em resposta a um sinal extra- ou intra-celular; neste momento entram em cena diferentes canais – vide Figura 1. O transporte de uma espécie ao longo de um gradiente de concentração é mediado por proteínas canais na membrana, enquanto que o transporte contra um gradiente de concentração é mediado por bombas na membrana tais como a ATPase Na^+/K^+ , uma proteína descoberta em 1957 por Jens Skou, que por isso recebeu o Prêmio Nobel de Química de 1997 – vide Rocha-Filho (1997).

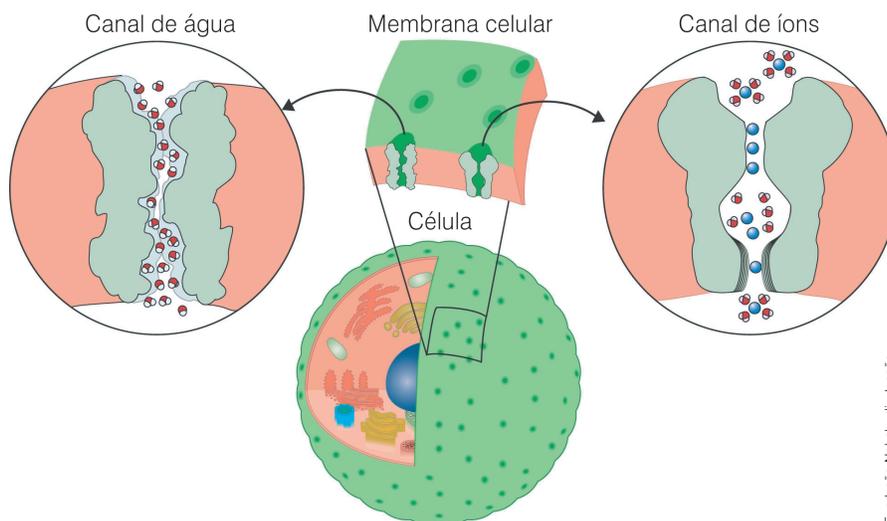


Figura 1: A parede celular não é uma casca totalmente impenetrável, sendo perfurada por vários canais. Muitos deles são especialmente adaptados para íons ou moléculas específicas, não permitindo que outras espécies passem.

Canais de água: aquaporinas

Os canais de água são cruciais para a vida, sendo encontrados em todos os organismos, de bactérias ao homem. Eles permitem que as células regulem seus volumes e a pressão osmótica interna. Por outro lado, os canais de água são fundamentais quando moléculas de água necessitam ser recuperadas de um fluido corporal, como ocorre quando a urina é concentrada nos rins. Nas plantas, esses canais são críticos para a absorção de água nas raízes e para a manutenção do balanço de água por toda a planta.

Descoberta

A existência de canais mediando o fluxo de água e pequenos solutos através de tecidos biológicos como a parede da bexiga urinária ou mesmo através da membrana de células individuais foi postulada desde a década de 40 do século 19. Em 1957, descobriu-se que moléculas de água são rapidamente transportadas através da membrana celular do glóbulo vermelho via canais seletivos a água, que excluíam íons e outros solutos. Estudos nos próximos 30 anos sobre transporte de água em vários organismos e tecidos sugeriram que os canais de água têm um estreito filtro de seletividade que impede o fluxo de prótons (H_3O^+) enquanto mantém uma taxa muito alta de permeação para H_2O (até mais de um bilhão de moléculas por segundo!). Entretanto, até 1988 ninguém tinha sido capaz de identificar uma proteína canal de água e o próprio conceito de canais específicos de água ainda era controverso.

Em meados dos anos 1980, Agre e seu grupo estudavam várias proteínas de membranas das células de glóbulos vermelhos. Em 1988, eles isolaram uma proteína de massa molecular 28 ku (então denominada de CHIP28), também encontrada no rim, com função desconhecida. Após a determinação de sua seqüência peptídica e a correspondente seqüência de DNA, se deram conta que a proteína CHIP28 deveria ser aquilo que tantos procuravam: o canal de água celular. Agre testou esta hipótese por meio de um experimento simples, no qual compa-

rou células que continham a proteína em foco com células que não a continham. Quando as células foram colocadas em uma solução aquosa, aquelas que tinham a proteína em suas membranas absorveram água por osmose, inchando-se, enquanto que nada ocorreu com as células que não tinham a proteína. O mesmo fenômeno foi observado quando a CHIP28 foi reconstituída em vesículas de lipídeos. Além disso, em ambos os casos, o inchamento era inibido por íons Hg^{2+} , um tratamento já conhecido para bloquear o transporte de água através da membrana de glóbulos vermelhos.

A descoberta da CHIP28 foi um momento decisivo no estudo de canais de água celulares. Muitas proteínas canais de água foram encontradas desde então em todo o mundo vivo; por sugestão de Agre, elas são conhecidas como *aquaporinas* (poros d'água), sendo que a CHIP28 é a aquaporina-1 (AQP1). No ser humano, existem pelo menos 11 aquaporinas diferentes; em plantas, o número é bem maior, sendo que só na planta modelo *Arabidopsis thaliana* mais de 35 versões diferentes já foram encontradas.

Como funcionam

Em 2000 e 2001, Agre e outras equipes de pesquisa relataram as primeiras imagens de alta resolução da estrutura tridimensional da AQP1. Com esses dados, foi possível estabelecer modelos detalhados para explicar algumas de suas características: alta taxa de permeação, estrita seletividade à água e a habilidade de evitar vazamento de prótons. Esta última propriedade é crucial porque a diferença de concentração hidrogeniônica entre o interior e o exterior da célula é a base para o sistema celular de armazenamento de energia.

Em resumo, a

arquitetura dos canais (Figura 2) permite que somente moléculas de água passem em fila indiana, sendo que resíduos positivamente carregados presentes no canal repelem os íons H_3O^+ . Além disso, o campo eletrostático local gerado pela proteína muda de polaridade no meio do canal, o que obriga as moléculas de água a fazerem uma rotação de tal modo que seus dipolos ficam orientados em direções diferentes na parte inferior e na parte superior do canal. Isso evita a formação de uma cadeia contínua de moléculas de água conectadas por pontes de hidrogênio, desse modo bloqueando a passagem de prótons via o mecanismo de "salto de prótons" (conhecido como *mecanismo de Grotthuss*).

Canais de íons

Em 1890, um dos pioneiros da Físico-Química, o alemão Wilhelm Ostwald (laureado com o Prêmio Nobel de 1909), baseado em experimentos com membranas coloidais artificialmente preparadas, propôs que os sinais elétricos em tecidos vivos poderiam ser causados pelo movimento de íons através da membrana celular. A idéia de que os potenciais de membrana eram eletroquímicos passou a ser aceita nas décadas seguintes e, em 1925, foi proposta a existência de estreitos canais de íons. Nos anos 1950, dois cientistas ingleses, Alan Hodgkin e

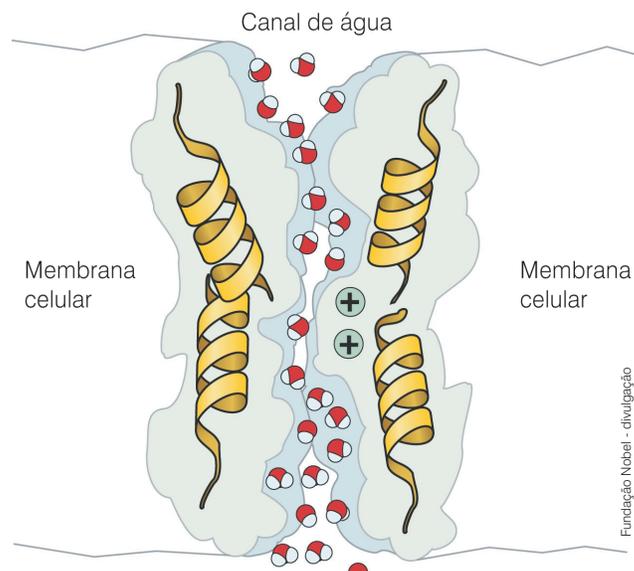


Figura 2: Passagem de moléculas de água através da aquaporina AQP1. Devido à carga positiva no centro do canal, íons carregados positivamente como o H_3O^+ são defletidos. Isto evita o vazamento de prótons pelo canal.

Andrew Huxley, lideraram o surgimento da era moderna da Neurofisiologia ao mostrar como os sinais elétricos eram transmitidos ao longo de tecidos nervosos: propuseram um modelo baseado na idéia de que canais separados de íons Na^+ e K^+ (e às vezes Ca^{2+}), presentes na membrana, com portões controlados por voltagem, produzem um sinal elétrico que é carregado de célula nervosa em célula nervosa de modo análogo a um bastão em corridas de passagem de bastão. Por seu trabalho desbravador, Hodgkin e Huxley receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina, em 1963. Além disso, na época também foi demonstrado que os íons K^+ se moviam através da membrana em fila indiana, fortalecendo ainda mais a idéia de estruturas de canais inseridas na membrana celular.

Portanto, há mais de 50 anos já se tinha conhecimento bastante avançado das características fundamentais dos canais de íons: capacidade de admitir um tipo de íon seletivamente (e não outro), possibilidade de se abrir e se fechar (portões controlados por voltagem), e às vezes conduzir íons em uma única direção. Todavia, continuava sendo um mistério como este maquinário molecular funcionava.

Rumo à visão molecular

Durante os anos 1970 mostrou-se que a seletividade dos canais de íons decorria deles terem um tipo de “filtro iônico” ou filtro de seletividade. Também ficou claro que este filtro era um elemento estruturalmente separado do portão. Posteriormente, com o desenvolvimento da capacidade de fazer registros de um único canal associada à possibilidade de clonar, causar mutações e expressar proteínas canais de íons em células como os oócitos de *Xenopus*, houve rápido progresso no mapeamento das diferentes regiões funcionais dos canais de íons. Considerando a diferença de raio iônico entre os íons K^+ e Na^+ , foi lançada a hipótese de que a seletividade para íons K^+ era decorrente de átomos de oxigênio na proteína fazerem o papel de “substitutos” das moléculas de água de hidratação que cercam o íon K^+ em solução aquosa e das quais ele

se livra durante a entrada no canal.

Em meados da década de 90, ficou claro que canais de íons K^+ e Na^+ tinham filtro de seletividade próximo à ponta extra-celular e um portão separado próximo à sua ponta intra-celular. Tinha-se então consciência que avanços rumo a uma melhor visão molecular só seriam possíveis via a cristalografia de raios X, mas não era fácil determinar estrutura de proteínas com este método.

Muitos tentaram, mas esse desafio foi surpreendentemente vencido por um pesquisador que se voltara ao problema poucos anos antes: Roderick MacKinnon. Após estudar Bioquímica, ele se interessou pela Medicina, tirou seu título de doutor e militou na área por alguns anos; como passou a se interessar cada vez mais por canais de íons, começou a pesquisar na área. Rapidamente se deu conta da necessidade de se obter estruturas melhores e de alta resolução para que avanços efetivos fossem conseguidos; assim, decidiu aprender os fundamentos da cristalografia de raios X. Poucos anos depois, em abril de 1998, ele deixou atônita a comunidade científica ao relatar a primeira estrutura de alta resolução do canal de íons K^+ (conhecido como KcsA) da bactéria *Streptomyces lividans*. Estava revelado como um canal de íons funciona na escala atômica (Figura 3). MacKin-

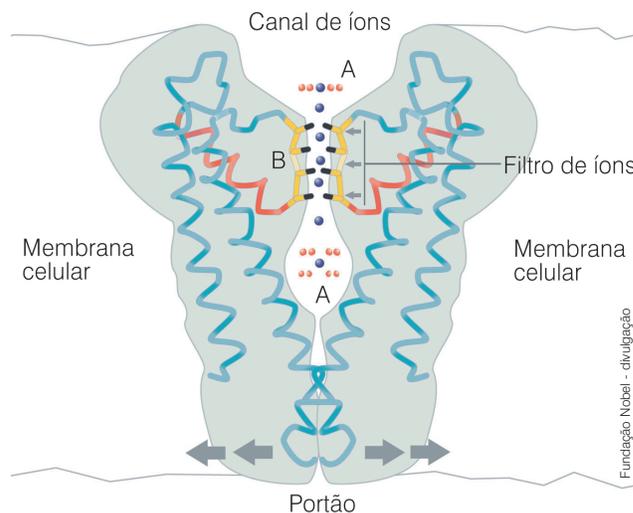


Figura 3: O canal de íons permite a passagem de íons K^+ mas não de íons Na^+ . Os átomos de oxigênio do filtro de íons formam um ambiente muito similar ao ambiente de água fora do filtro. A célula também pode controlar a abertura e fechamento do canal.

non conseguiu mostrar que efetivamente a distância entre os átomos de oxigênio do filtro na proteína e o íon K^+ é igual à entre este íon e os átomos de oxigênio das moléculas de água que o rodeiam em solução; por isso ela é seletiva a íons K^+ , pois os íons Na^+ , menores, não conseguem passar por não se ajustarem adequadamente entre os átomos de oxigênio no filtro, permanecendo em solução (Figura 4).

A célula também deve ser capaz de abrir e fechar o canal. MacKinnon

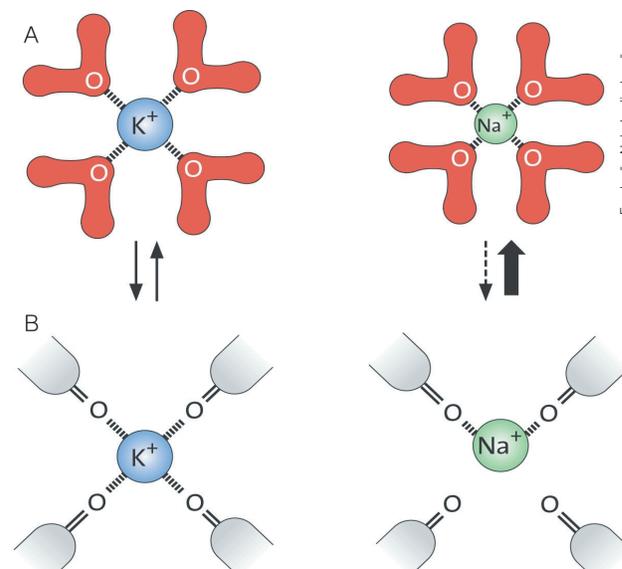


Figura 4: A - fora da membrana celular, os íons estão ligados a moléculas de água com certas distâncias aos átomos de oxigênio da água. B - dentro do filtro de íons, para os íons K^+ a distância aos átomos de oxigênio no filtro é a mesma ou igual à em água. Os íons Na^+ , menores, não se ajustam aos átomos de oxigênio no filtro, o que os impede de entrar no canal.

Os premiados



Univ. Johns Hopkins - divulgação

Peter Agre - Nasceu em 1949, em Northfield, Minnesota (MN), nos EUA. Bacharel em Química (1970) pelo Augsburg College (Minneapolis – MN), doutorou-se em Medicina (1974) pela Univ. Johns Hopkins, em Baltimore, Maryland, EUA. Após períodos de residência médica (na Univ. Case Western Reserve) e estágio de pós-doutoramento (na Univ. da Carolina do Norte em Chapel Hill), foi pesquisador na iniciativa privada por um ano (Labs. Wellcome, em Research Triangle Park, na Carolina do Norte) e na Univ. Johns Hopkins por três anos (1981-1984). A partir de 1984, entrou na carreira docente na Escola de Medicina da Univ. Johns Hopkins, na qual é professor titular no Departamento de Química Biológica desde 1993. Detém duas patentes (uma sobre a aquaporina-1 e outra sobre a aquaporina-5) e é autor de quase duas centenas de publicações acadêmicas, incluindo-se capítulos de livros e 3 livros. Recebeu diversos prêmios e homenagens por seu trabalho com aquaporinas. Anualmente tem proferido um número significativo de palestras em congressos científicos pelo mundo afora; no Brasil, esteve em 2000 em congressos em Campinas e Caxambu, tendo retornado após o anúncio do Prêmio Nobel para participar de congresso no Rio de Janeiro, na 2ª quinzena de outubro de 2003. Desde 2000, é membro da Academia Nacional de Ciências dos EUA; em 2003, foi eleito para a Academia Americana de Artes e Ciências.



©2003 Robert Rathe, para o Instituto Médico Howard Hughes

Roderick MacKinnon - Nasceu em 1956, no estado de Massachusetts (MA), EUA, tendo crescido em Burlington, nos arredores de Boston. Bacharel em Bioquímica (1978) pela Univ. Brandeis (Boston – MA), doutorou-se em Medicina (1982) pela Univ. Tufts, também em Boston. Em 1986 retornou à Univ. Brandeis para realização de estágio de pós-doutoramento no laboratório de seu orientador de graduação, onde começou a trabalhar sobre aspectos biofísicos do funcionamento de canais de íons, mais especificamente da proteína seletiva de íons potássio. Continuou este tipo de estudos após ingressar no corpo docente da Escola de Medicina de Harvard, em 1989, onde é professor titular. Em 1996, transferiu-se, como professor titular, para a Univ. Rockefeller, em Nova Iorque; desde 1997 é pesquisador do Instituto Médico Howard Hughes. Recebeu diversos prêmios e homenagens por seu trabalho com canais de íons. Desde 2000, é membro da Academia Nacional de Ciências dos EUA.

mostrou que isso ocorre por meio de um portão situado no fundo do canal, que se abre ou fecha em resposta a um sensor molecular próximo a ele. Este sensor pode reagir a um sinal, por exemplo à aproximação de alguma molécula, ao aumento na concentração de íons cálcio ou mesmo a uma voltagem na membrana da célula. Com a possibilidade de ter diferentes sensores em canais de íons, a Natureza criou canais que respondem a um grande número de estímulos diferentes.

Considerações finais

Os canais de membranas permitem o transporte rápido, seletivo e regulado de água, íons e pequenos solutos através das membranas biológicas. Presentes em todas as células vivas, estão subjacentes a funções celulares críticas como os sinais nervosos, as contrações musculares, a função cardíaca, a reabsorção de água nos rins (150-200 L por dia, com concomitante reabsorção de íons sódio, potássio e

cloreto) e a absorção de água nas raízes das plantas.

Quaisquer distúrbios nas funções desses canais podem levar a doenças sérias. No caso dos canais de água nos rins, seu funcionamento é estimulado pelo hormônio antidiurético vasopressina; pessoas com deficiência deste hormônio podem sofrer da doença *diabetes insípida*, que causa a produção de 10-15 L de urina por dia. A baixa resistência de muitas pessoas a altas temperaturas (responsável pelo elevado número de mortes durante ondas de calor exacerbado) também parece estar relacionada a funcionamento inadequado de aquaporinas. Por outro lado, deficiência no funcionamento dos canais de potássio pode levar a doenças cardíacas.

Portanto, contribuições, como as de Agre e MacKinnon, para o entendimento em escala molecular do funcionamento desses canais permitirão que novos remédios sejam engendrados para o tratamento das diferentes doenças a eles associadas.

Romeu C. Rocha-Filho (romeu@dq.ufscar.br), licenciado em Química pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), mestre em Físico-Química e doutor em Ciências (Físico-Química) pela USP, é docente do Dep. de Química da UFSCar, em São Carlos - SP.

Referências bibliográficas

ROCHA-FILHO, R.C. Prêmio Nobel 97 e a decisão sobre os nomes dos elementos químicos. *Química Nova na Escola*, n. 6, p. 13-14, 1997.

Para saber mais

AGRE, P. e KOZONO, D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Letters*, 2003 (disponível em: <http://www.elsevier.nl/febs/14/241/article.html> - acessado em 8/11/03).

MACKINNON, R. Potassium channels. *FEBS Letters*, 2003 (disponível em: <http://www.elsevier.nl/febs/14/196/article.html> - acessado em 8/11/03).

Na internet:

Museu Nobel Eletrônico da Fundação Nobel: <http://www.nobel.se/chemistry/laureates/2003>

Abstract: Nobel 2003. *Water and Ion Channels: Life Processes at the Molecular Level* – The 2003 Nobel Prize in Chemistry was awarded to the discoverer of water channels and to a studious researcher of the structure and mechanisms of ion channels. This article presents, besides brief biographies of the two laureates, what are these channels in cell walls and discusses their importance for processes underlying life.

Keywords: Nobel prize, water channel, aquaporins, ion channel