

2. O óxido nítrico e os sistemas biológicos

2.1 O óxido nítrico

Entre 1984 e 1987, vários estudos demonstraram que o NO é biossintetizado em várias células do organismo, sendo essencial em inúmeras funções orgânicas (Nelin, 1998; Mulsch, 1990; McCall, 1992; Moncada, 1991). Vários livros e muitos artigos de revisão têm sido publicados, a respeito das diferentes funções do NO em sistemas biológicos e de suas interações relevantes para essas funções (Ignarro, 2002; Wang et al., 2005; Moncada et al., 1991; Nathan, 1992; Ignarro, 1989), incluindo um volume de *Biochimica et Biophysica Acta* (1999) dedicado inteiramente ao óxido nítrico. Muitos desses artigos, incluindo especialmente o de Queiroz e Batista (1999), serviram de base para elaborar essa seção.

Nos vasos sanguíneos, a formação contínua de NO pelas células endoteliais promove o relaxamento da musculatura lisa, produzindo vasodilatação (Ignarro, 1989; Ignarro, 2002; Änggård, 1994). No sistema imune, macrófagos, quando estimulados, produzem grande quantidade de NO, que funciona como uma molécula assassina, destruindo células-alvo (cancerosas) e micro-organismos. O NO atua também em outros sistemas, tais como o sistema nervoso central, gastrintestinal, respiratório, cardíaco e genitourinário. Essas descobertas levaram a extensa produção científica relacionada ao NO.

2.1.1

Processos biológicos envolvendo óxido nítrico

A biosíntese do óxido nítrico

Praticamente todas as células humanas estudadas até agora têm a capacidade de produzir NO. A síntese ocorre durante a transformação do aminoácido semi-essencial L-arginina em L-citrulina e óxido nítrico, em uma reação mediada pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS). A enzima NOS (Fig. 2.1) inicialmente descoberta no endotélio vascular é conhecida como eNOS (NOS endotelial), ao passo que a que se encontra presente no cérebro e no sistema nervoso periférico é chamada de nNOS (NOS neuronal). A forma da enzima NOS cuja síntese é induzida pelo estímulo imunológico ou inflamatório é designada como iNOS (NOS induzida).

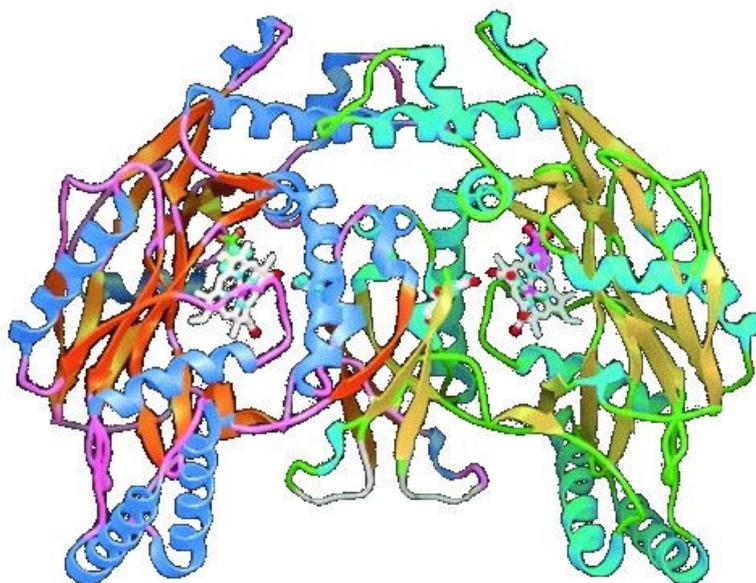


Figura 2.1

Óxido nítrico sintetase (dímero) (Prof. D. Rousseau, Dept. of Physiology & Biophysics, Albert Einstein College of Medicine, <http://www.aecom.yu.edu/home/biophysics/rousseau/nos/nos.htm>).

Cada unidade monomérica da enzima NOS apresenta uma unidade de cada um dos quatro grupos prostéticos da enzima (Fig. 2.2), dentre eles, a ferro protoporfirina IX (heme).

Algumas isoformas da NOS possuem um cofator adicional, a calmodulina. Na presença de elevada concentração de cálcio, a calmodulina liga-se a certas NOS, ativando-as. Esse processo está relacionado com as NOS ditas constitutivas, ou seja, a endotelial e a neuronal. No entanto, a situação é diferente para as NOS do sistema imunológico, onde a atividade das mesmas é independente da presença de Ca^{2+} e da calmodulina (Nathan, 1992).

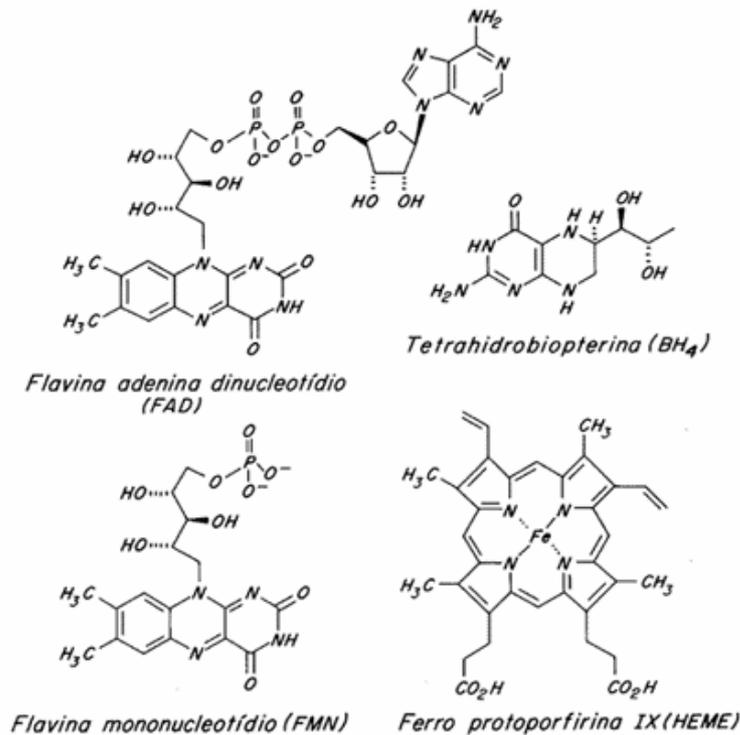


Figura 2.2

Grupos prostéticos presentes na enzima NO sintetase. (Queiroz e Batista, 1999)

O óxido nítrico como regulador da pressão sanguínea

De acordo com a estrutura, propriedades de contração e mecanismo de controle, existem três tipos de músculos: músculo estriado esquelético, músculo estriado cardíaco e músculo liso. Os músculos lisos são involuntários e encontram-se envolvendo a parede de órgãos ocos. São responsáveis, dentre outros fenômenos, pelas contrações que empurram os alimentos ao longo do tubo digestivo e que diminuem o calibre das artérias, aumentando a pressão do sangue. No início dos anos oitenta, foi sugerido que a relaxação no músculo liso requer a

ativação da enzima guanilato ciclase e seria acompanhada pela conversão de GTP (guanosina trifosfato) em cGMP (guanosina monofosfato cíclica), sendo este processo de conversão desencadeado por mensageiros químicos (Butler e Williams, 1993). Furchgott e Zawadzki descobriram em 1980 que, na realidade, os mensageiros químicos responsáveis pela dilatação dos vasos sanguíneos agem na camada celular chamada endotélio, que reveste o interior do vaso sanguíneo. Eles chamaram essa misteriosa molécula de fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF, do inglês endothelium-derived relaxing factor) (Furchgott e Zawadzki, 1980). Porém, apenas em 1988 Furchgott e Ignarro sugeriram, simultaneamente, que o EDRF e o óxido nítrico eram a mesma molécula (Furchgott, 1988; Ignarro, 1988).

O processo de vasodilatação

A acetilcolina é um neurotransmissor que ativa receptores no endotélio vascular, provocando aumento do fluxo de cálcio para o interior da célula. Isso inicia a catálise do óxido nítrico (Fig. 2.3). O cálcio e a calmodulina (proteína de baixo peso molecular, que funciona como co-fator para ativar a NOS) ligam-se à NOS iniciando a síntese de NO.

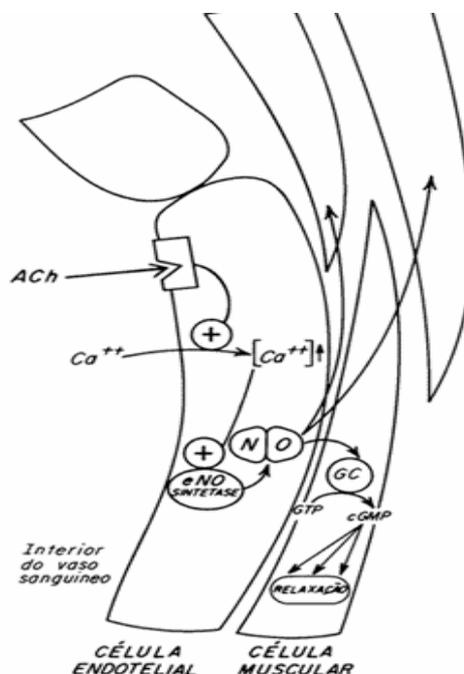


Figura 2.3

Produção do óxido nítrico a partir da ativação da enzima NO sintetase endotelial eNOS, e seu mecanismo de atuação na relaxação muscular. (Queiroz e Batista, 1999)

Ao difundir-se para a musculatura lisa o NO gerado irá ligar-se ao ferro do grupo prostético heme da enzima guanilato ciclase (GC), que é então ativada e converte GTP em c-GMP. A c-GMP é a molécula responsável pelo relaxamento da musculatura lisa e conseqüentemente pelo aumento do diâmetro dos vasos sanguíneos, aumentando o fluxo sanguíneo e reduzindo a pressão arterial.

O processo de dilatação pode ocorrer também quando nitro-vasodilatadores, como a nitroglicerina, liberam NO diretamente para o endotélio e para a musculatura vascular lisa.

Ignarro e colaboradores (Ignarro et al., 2001) demonstraram, em seres humanos, que a administração de arginina por via oral produz melhora da função endotelial em vasos coronarianos de pequeno calibre, assim como uma redução nos níveis plasmáticos de endotelina (potente substância vasoconstritora). Com base nos resultados obtidos, estes autores propuseram que a arginina poderia representar uma opção terapêutica em pacientes com disfunção endotelial coronariana e em portadores de doença coronária não obstrutiva.

O óxido nítrico, além de relaxar o músculo liso vascular, causando vasodilatação, tem a função de inibir outros processos como a agregação plaquetária, a adesão de leucócitos ao endotélio e a produção de endotelina. O óxido nítrico causa, ainda, variação nas propriedades contráteis e na frequência cardíaca. No sistema cardiovascular, a liberação de óxido nítrico atua regulando o fluxo sanguíneo e a pressão arterial, através de ação sobre a musculatura lisa.

O óxido nítrico no sistema nervoso

O sistema nervoso, coordenador de todas as atividades orgânicas, integra sensações e idéias, conjuga fenômenos da consciência e adapta o organismo às condições do momento. É formado por células nervosas ou neurônios, elementos altamente diferenciados em excitabilidade e condutibilidade. As células nervosas são alongadas e apresentam 3 partes fundamentais: o corpo celular, os dendritos e os axônios. Os estímulos nervosos são recebidos pelos dendritos, seguem pelo corpo celular, percorrem o axônio e, da extremidade deste, são passados à célula seguinte, por meio de um sítio específico, denominado sinapse (Erhart, 1973; Mountcastle, 1974).

As células nervosas são, em sua maioria, eletricamente isoladas umas das outras; os axônios de um neurônio estão separados dos dendritos do neurônio

seguinte por um espaço denominado espaço sináptico. Quando o impulso nervoso atinge a extremidade do axônio na região da sinapse, a alteração elétrica da membrana do axônio leva à liberação de substâncias químicas denominadas neurotransmissores, que são mediadores químicos. Estas substâncias difundem-se pelo espaço sináptico e provocam alterações elétricas na membrana da célula seguinte, gerando assim um novo impulso nervoso nesta célula.

Os neurotransmissores enquadram-se em diferentes classes químicas. Os primeiros neurotransmissores conhecidos, descobertos entre 1930 e 1960, eram todos derivados de aminas. Na década de 1960, os pesquisadores começaram a perceber que também aminoácidos eram neurotransmissores. A terceira classe de neurotransmissores abrange os peptídeos. Nos últimos anos, o trabalho em diversos laboratórios de pesquisa levou ao reconhecimento de uma quarta e extraordinária classe de neurotransmissores, incluindo o óxido nítrico e o monóxido de carbono (Patrick, 1995).

O óxido nítrico e a neurotransmissão

Em uma visão geral do processo (Fig. 2.4), podemos considerar que um neurônio ativado (neurônio pré-sináptico) libera através de vesículas um mensageiro químico chamado glutamato (neurotransmissor excitatório), que se difunde pelo espaço sináptico e se liga a um receptor especializado em glutamato, o receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), localizado no neurônio pós-sináptico.

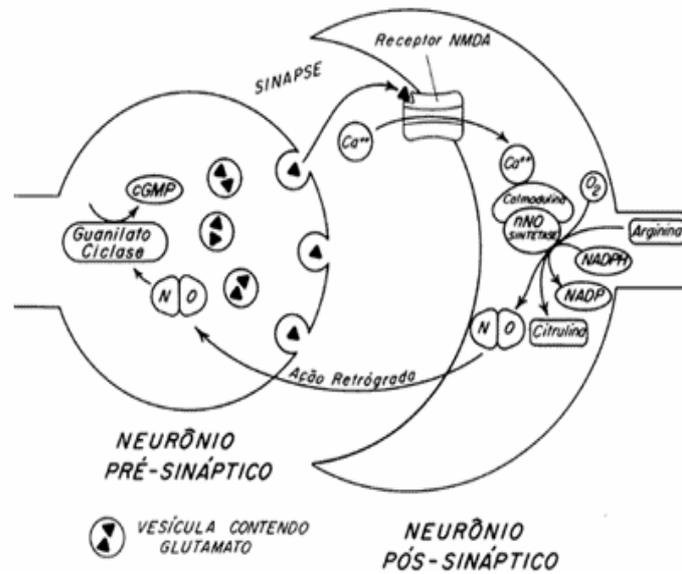


Figura 2.4

Produção do óxido nítrico a partir da ativação da enzima NO sintetase neuronal, nNOS, e seu mecanismo de atuação como mensageiro retrógrado (Queiroz e Batista, 1999).

Essa ligação torna o receptor permeável a Ca^{2+} que, no interior da célula, liga-se à calmodulina. Este complexo Ca^{2+} -calmodulina ativa a forma da NOS encontrada nas células nervosas (nNOS) catalisando a reação que produz NO.

A óxido nítrico sintetase cerebral é amplamente distribuída e se encontra presente no cérebro, cerebelo, hipocampo, lobos olfativos, nos nervos periféricos que inervam órgãos pélvicos, bexiga, trato gastrointestinal, traquéia, adrenais, etc.

Propostas apresentadas no início da década passada (Shuman, 1991; O'Dell, 1991) sugeriram que o NO também atua como mensageiro retrógrado, difundindo-se do neurônio pós-sináptico e retornando ao neurônio pré-sináptico, onde ativa a enzima GC, promovendo um aumento dos níveis de cGMP. A cGMP desencadeia o processo que resulta na liberação do glutamato e o ciclo se repete. Essa repetição do ciclo fortalece o contato sináptico e providencia um mecanismo celular para o processo de aprendizagem, contribuindo para a formação de uma memória de longo prazo (Lancaster, 1992; Ainscough, 1995), entendida como recordação de fatos após muitos anos. Memória de curto prazo é aquela que não chega a ser retida como, por exemplo, a memória para discar um número telefônico encontrado no catálogo, que dura em média de 30 segundos a dois minutos (Noltenius, 1977).

Anderson & Wagner (1995) demonstraram que, para haver início e manutenção de ereção, é necessário o aumento do influxo sanguíneo arterial para os corpos cavernosos, decorrente de vasodilatação arterial mediada por estímulos dos nervos erigentes e por fibras não adrenérgicas e não colinérgicas, cujo neurotransmissor é o óxido nítrico. De acordo com os estudos de (Burnet, 1997) o óxido nítrico é o neurotransmissor mais importante durante a ereção, pois promove o relaxamento das fibras musculares lisas por ativação do cGMP, o qual controla as trocas iônicas de sódio e potássio entre os meios intra- e extracelular.

O óxido nítrico no sistema imunológico

A função do NO no sistema imunológico é bem diferente do que em neurônios ou na vasodilatação. Macrófagos contêm uma terceira forma de NOS que é induzida iNOS por agentes citotóxicos. Muitos outros tecidos podem apresentar também a iNOS, incluindo as células do endotélio vascular, do músculo liso além das células nervosas, porém ao contrário da nNOS e da eNOS, essa iNOS não depende de Ca^{+2} . Em macrófagos a síntese de iNOS é controlada como uma resposta a indutores biológicos chamados de citocinas, produzidas por células infectadas. Qualquer tipo de infecção, bacteriana, virótica ou mesmo câncer, leva à produção de citocinas, que carregam a mensagem do estado de infecção para as vizinhanças das células humanas. Estas prontamente iniciam a síntese de iNOS. Os indutores mais importantes de iNOS são o interferon gama e os lipopolissacarídeos, assim como inibidores são os glicocorticóides.

Mecanismo de atuação do NO no sistema imunológico

A partir da indução por citocinas, sequências de DNA do macrófago que sintetiza iNOS são sensibilizadas para formar o RNA mensageiro. Depois de processado este mRNA é liberado no citosol onde será traduzido pelos ribossomos na proteína que, em presença de cofatores apropriados enovela-se formando a enzima iNOS (Fig. 2.5).

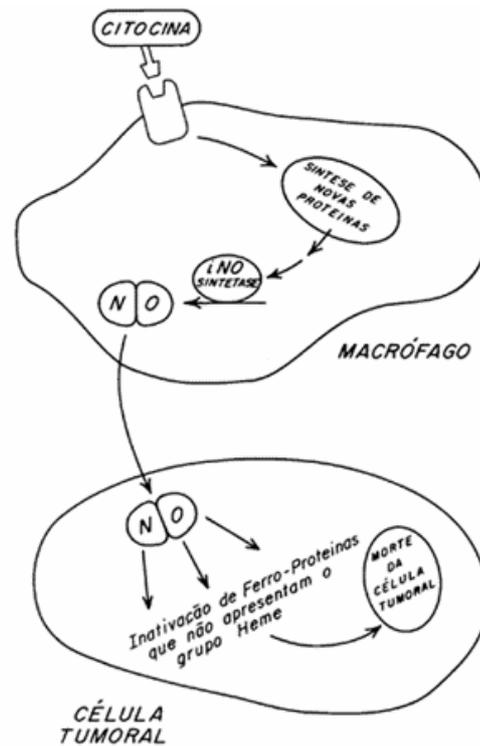


Figura 2.5

Produção de óxido nítrico a partir da enzima iNOS e seu mecanismo de atuação na destruição de células tumorais (Queiroz e Batista, 1999).

Uma vez formada, a iNOS começa imediatamente a sintetizar NO a partir de L-arginina. No interior do macrófago, o NO gerado difunde-se em todas as direções e a proximidade do macrófago a uma célula tumoral, bactéria, fungo ou algum helminto, assegura que boa parte do NO penetre nas células desses microorganismos. Uma vez no interior, o óxido nítrico pode danificá-las atacando os centros de ferro e enxofre de várias proteínas chaves, prejudicando tanto o ciclo respiratório quanto a síntese de DNA.

No ciclo respiratório, a ação do NO sobre enzimas importantes leva à diminuição da síntese de ATP e conseqüente diminuição da produção de energia vital para a célula. Na síntese de DNA, o NO afeta a enzima que converte ribonucleotídeos em desoxiribonucleotídeos, necessários para a síntese de DNA. A inibição dessa enzima pode ser um importante caminho pelo qual os macrófagos inibem a rápida proliferação de células tumorais.

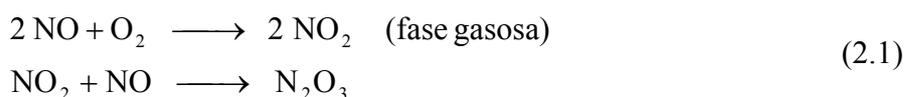
2.1.2

Reações envolvendo óxidos de nitrogênio

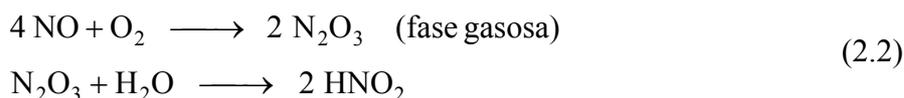
O óxido nítrico é uma molécula que apresenta um elétron desemparelhado. Esta propriedade é de grande relevância, uma vez que as interações químicas do óxido nítrico em sistemas biológicos, em maioria, são caracterizadas como estabilizações do elétron desemparelhado. Em geral a estabilização acontece através da reação do óxido nítrico com outro radical livre ou pela sua complexação a um metal. No primeiro caso, o resultado eventual é a formação de espécies diamagnéticas estáveis e no segundo caso, o elétron desemparelhado é dividido entre o óxido nítrico e o metal (Kerwin et al., 1995).

Sendo uma espécie radicalar, o óxido nítrico é capaz de reagir rapidamente com outros radicais importantes do ponto de vista biológico, tais como oxigênio molecular e superóxido. O significado químico e biológico da oxidação do óxido nítrico pela molécula do oxigênio é objeto de numerosas investigações e é certo que tais reações são importantes para a sua toxicologia e fisiologia (Fukuto e Ignarro, 1997).

O óxido nítrico é muito instável em atmosfera aeróbica, em questão de segundos reage com oxigênio formando dióxido de nitrogênio (NO_2) e anidrido nitroso (N_2O_3). Em fase gasosa (Eq. 2.1), duas moléculas de óxido nítrico reagem com oxigênio formando duas moléculas de dióxido de nitrogênio, este dióxido de nitrogênio reage com o próprio NO formando anidrido nitroso.



Em fase aquosa (Eq. 2.2), quatro moléculas de NO reagem com oxigênio formando duas moléculas de anidrido nitroso. Este N_2O_3 reage com água formando duas moléculas de ácido nitroso (HNO_2).



As principais reações de óxido nítrico em sistemas biológicos foram resumidas por Cai et al. (2005). O esquema da Fig. 2.6 representa as diferentes vias de reação do óxido nítrico. O NO sofre oxidação ou redução em sistemas biológicos para ser convertido em diferentes espécies reativas de nitrogênio

(RNS). O NO pode reagir com oxigênio molecular (O_2), como descrito acima, com o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) ou com metais de transição (M) para produzir RNS, tais como N_2O_3 , NO_2 , NO_2^- , NO_3^- , peroxinitrito ($OONO^-$), e adutos metal-nitrosil (Fig. 2.6, Via A) (Davis et al., 2001; Wink et al., 1993). Entre esses RNS, peroxinitrito destaca-se como uma espécie importante (Huie & Padmaja, 1993; Pryor & Squadrito, 1995). A reação entre NO e $O_2^{\cdot-}$ produz peroxinitrito a uma taxa controlada por difusão (Goldstein & Czapski, 1995; Kobayashi et al., 1995; Beckman et al., 1996). Peroxinitrito é uma espécie fortemente oxidante e nitrante que causa dano molecular levando à disfunção celular causadora de enfermidades (Koppenol, 1998; Murphy et al., 1998).

NO pode também ser rapidamente oxidado por oxigênio, superóxido ou metais de transição a nitrosônio (NO^+), que reage com centros nucleofílicos tais como ROH, RSH e $RR'NH$ para produzir $RO-NO$, $RS-NO$ ou $RR'N-NO$, respectivamente (Fig. 2.6, Via B) (Heck, 2001; Stamler, 1994). Esses produtos, subsequentemente, sofrem outras reações para exibir seus efeitos biológicos.

Além disso, NO também sofre redução monoelétrica para produzir nitroxil (NO^-) (Fig. 2.6, Via C). O Nitroxil converte-se rapidamente em N_2O em condições fisiológicas. Outras reações competitivas de nitroxil incluem adição a grupos tiol (NO^- singlete) para gerar NH_2OH e reação com oxigênio (NO triplete) para formar peroxinitrito ($ONOO^-$). Tem sido mostrado que nitroxil também exibe várias funções biológicas, tais como vasodilatação e citotoxicidade (Wink et al., 2003; Fukuto et al., 1992; Fukuto et al., 1994; Feelisch, 2003; Wink et al., 1998; Ohshima et al., 1999; Chazotte-Aubert et al., 1999).

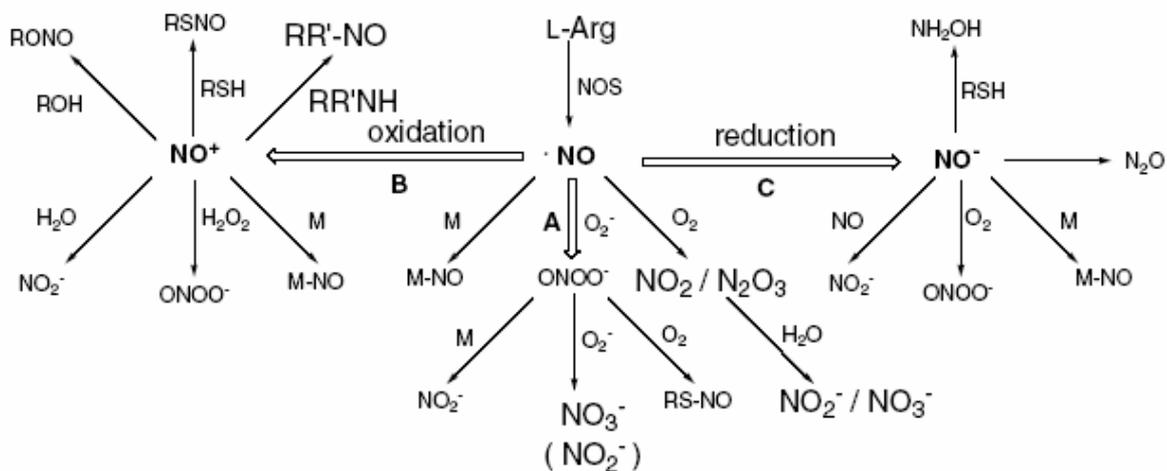


Figura 2.6

Oxidação e redução de espécies reativas de nitrogênio (Cai et al. 2005).

2.1.3

Doadores de NO

A intensa investigação relacionada às funções biológicas de NO e de outras espécies reativas de nitrogênio demandam fontes exógenas de doadores de NO como ferramentas de pesquisa e como fármacos. Desde meados dos anos 80, o desenvolvimento de novos doadores de NO tem oferecido várias vantagens sobre doadores mais antigos, como liberação espontânea de NO, liberação sob taxas controladas visando especificamente alguns tecidos.

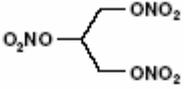
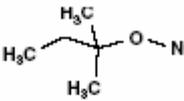
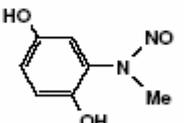
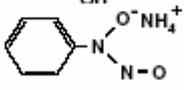
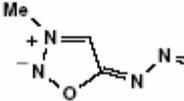
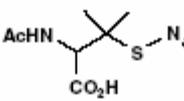
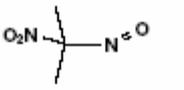
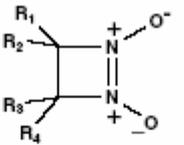
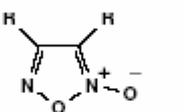
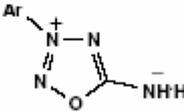
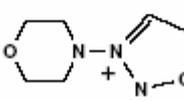
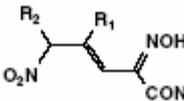
Diferenças estruturais dos diversos doadores de NO têm levado a reatividades e mecanismos de liberação consideravelmente variados. Geralmente os doadores liberam NO através de três tipos de mecanismo. O primeiro é a doação espontânea de NO, em que NO é liberado através de auto-decomposição térmica ou fotoquímica, como por exemplo, em S-nitrosotióis. A segunda via é aquela em que NO é liberado por reações químicas com ácido, álcali, metal e tiol. Nitratos orgânicos, nitritos e sindnoniminas fornecem NO através desse mecanismo. A terceira via é a oxidação enzimática em que doadores de NO, por exemplo, *N*-hidroxiguanidinas, necessitam de ativação metabólica por NO sintetases ou oxidases. Alguns doadores liberam NO por mais de uma rota, como nitratos orgânicos, que podem também gerar NO por catálise enzimática.

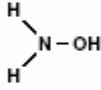
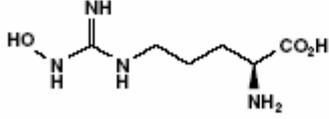
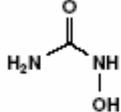
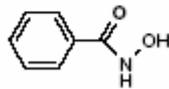
A classificação de todos os doadores de NO pode ser confusa, já que todos os compostos ligados a nitrogênio-oxigênio têm potencial para se decompor, ser oxidados ou reduzidos, produzindo espécies reativas de nitrogênio. No entanto, estruturas químicas similares geralmente têm mecanismos similares de liberação de NO. A Tabela 2.1 mostra as classes de doadores de NO atualmente conhecidas.

A síntese de compostos que podem liberar NO é relativamente simples mas, para uso terapêutico, elas devem ter seletividade, permitir liberação controlada e permanecer em níveis subtóxicos. Apesar das muitas classes de doadores de NO que têm sido reportadas, nitratos orgânicos, diazeniodiolatos e S-nitrosotióis são ainda os três tipos mais importantes de doadores. Eles possuem as óbvias vantagens de se decompor em solução e de mimetizar os nitrosotióis endógenos. No entanto, pacientes que tomam nitrato por longo período desenvolvem resistência e a administração prolongada de nitroprussido de sódio pode levar ao acúmulo de cianeto no corpo. S-nitrosotióis não têm esses inconvenientes.

Talvez ainda levem alguns anos para que novos doadores de óxido nítrico sejam usados extensivamente. O desenvolvimento de doadores híbridos, que são formados conectando-se uma parte liberadora de NO a uma molécula bioativa bem-estabelecida, parece uma tendência promissora. Esses compostos híbridos podem abolir efeitos colaterais deletérios, reduzir a toxicidade ou produzir efeitos sinérgicos. A melhor compreensão da complexa bioquímica e biologia molecular do NO deve levar a mais aplicações terapêuticas dos doadores.

Tabela 2.1 Principais classes de doadores de NO (Cai et al. 2005)

Chemical Class	Representative Compounds	Pathway of NO Generation	
		Non-enzymatic	Enzymatic
Organic nitrate		Thiols	Cyt-P450, GST, etc
Organic nitrite		Hydrolysis, trans-nitrosation, thiols, light, heat	Xanthine oxidase, etc
Metal-NO complex	$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Light, thiols, reductants, nucleophiles	A membrane-bound Enzyme
N-Nitrosamine		OH^- , light	Cyt-P450 related enzyme
N-Hydroxyl nitrosamine		Light, heat	Peroxidases
Nitrosimine		Thiols, light	?
Nitrosothiol		Spontaneous, enhanced by thiols, light, metal ions	Unknown enzymes
C-Nitroso compound		Light, heat	?
Diazetidine dioxide		Spontaneous, thiols	?
Furoxan & benzofuroxan		Thiols	Unknown enzyme
Oxatriazole-5-imine		Thiols	?
Syndonimine		Spontaneous, enhanced by light, oxidants, pH > 5	Prodrugs require enzymatic hydrolysis
Oxime		Spontaneous, $\text{O}_2/\text{Fe}^{\text{III}}$ -porphyrin	Cyt-P450

Chemical Class	Representative Compounds	Pathway of NO Generation	
		Non-enzymatic	Enzymatic
Hydroxy-amine		Anto-oxidation enhanced by metal ions	Catalase/H ₂ O ₂
N-Hydroxy-guanidine & guanidine		Oxidants	NOS, Cyt-P450
Hydroxy-urea		H ₂ O ₂ /CuZn-SOD or ceruloplasmin, H ₂ O ₂ /Cu ²⁺ , heme-containing proteins	Peroxidase
Hydroxamic acid		?	Guanylate cyclase

Oxido nítrico e as aplicações médicas e farmacológicas

A superprodução inapropriada de NO pode causar uma série de patologias tais como doenças degenerativas, incluindo inflamação, doenças reumáticas, choque séptico, diabetes e isquemia cerebral. Portanto, para regular a produção de NO, o desenvolvimento de inibidores específicos de isoformas de NOS tem sido uma área ativa de pesquisa. Por outro lado, produção insuficiente de NO também causa sérios problemas médicos. Muitas doenças como hipertensão e aterosclerose envolvem deficiência de produção de NO. Portanto, um composto que pode liberar NO sob condições específicas pode ser usado terapeuticamente como paliativo na subprodução de NO. De fato, o mais conhecido doador de NO, nitroglicerina, tem sido utilizado por mais de um século para aliviar ataques agudos de angina pectoris.

No presente, doadores de NO têm uma variedade de aplicações biomédicas. Embora a compreensão da fisiologia e patologia do NO pareça bastante incompleta, informações indiretas e diversas correlações sugerem que tanto o excesso quanto a insuficiência de NO induzem doenças e danos a tecidos. De longe, as doenças mais significativas associadas à insuficiência de NO são

cardiovasculares. Além de suplementação de NO em situações em que a insuficiência de NO representa patologia, como na disfunção erétil, doadores de NO podem também regular o mecanismo fisiológico. O benefício da administração de NO tem sido reconhecido em muitas outras doenças, além de desordens cardiovasculares, doenças do sistema nervoso e inflamação.

O NO serve também como sinalizador de algumas doenças. No tratamento da asma brônquica, foi mostrado que existe diferença significativa de concentração de NO no ar expirado e no escarro induzido entre indivíduos saudáveis e indivíduos com a doença, estando significativamente aumentado em asmáticos (Fig. 2.7). O óxido nítrico exalado encontra-se aumentado na asma atópica, aumenta durante as exacerbações, diminui com terapia antiinflamatória (Baraldi et al., 1997) e aumenta quando doses de corticóides inalados são reduzidas (Kharinotov et al., 1996). Como instrumento de diagnóstico, os níveis de NO exalado discriminam asmáticos de não asmáticos, com alta sensibilidade e especificidade (Chatkin et al., 1999).

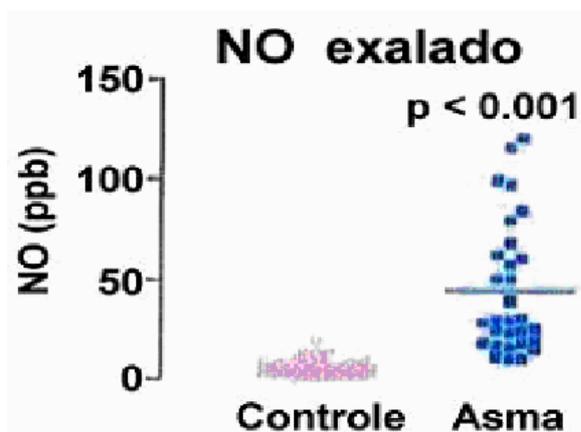


Figura 2.7

Comparação entre concentrações de óxido nítrico expirado por indivíduos saudáveis (controle) e apresentando asma brônquica.

www.asma-bronquica.com.br/medical/resposta_tardia_oxido_nitrico.html

2.2

Porfirinas e hemoproteínas

2.2.1

As porfirinas.

As moléculas conhecidas como porfirinas consistem de uma organização geométrica de quatro anéis aromáticos, os grupamentos pirrol, ligados por moléculas de meteno seguindo uma estrutura planar (Fig.2.8). Além da ligação dos grupamentos pirrol pelo meteno, é interessante notar que os quatro átomos de nitrogênio, constituintes destes compostos aromáticos, são dirigidos para o centro da porfirina. Além disso, as faces externas dos grupamentos pirrol possuem átomos de hidrogênio substituíveis por ligantes químicos e são justamente estes possíveis ligantes que vão originar as diversas porfirinas.

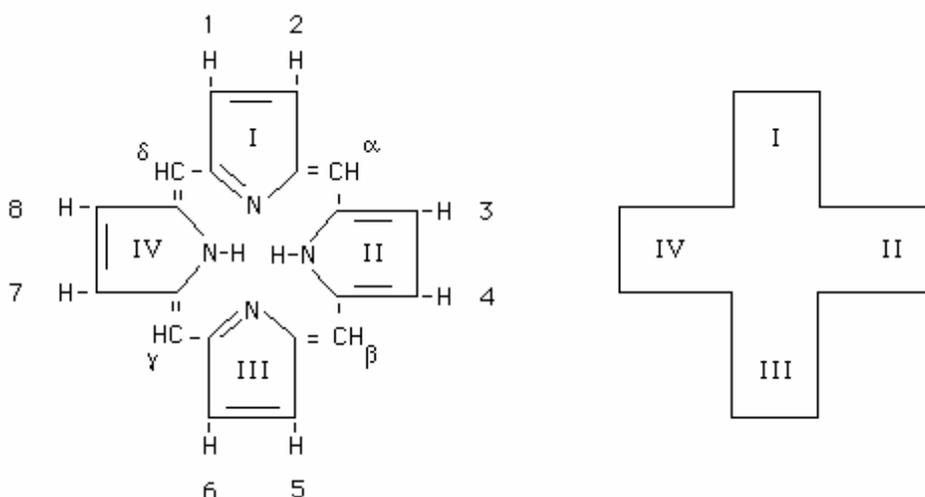


Figura 2.8

À esquerda a porfirina, os quatro grupamentos pirrol e os algarismos romanos que os designam; os algarismos arábicos apresentam as posições nas quais os possíveis ligantes podem se vincular; as letras gregas denotam as pontes de meteno. À direita; representação esquemática das porfirinas.

<http://www-medlib.med.utah.edu/NetBiochem/hi2.htm>

Essa interessante e bem definida geometria, além de ser a responsável pelos espectros óticos característicos, permite o uso de uma nomenclatura útil e funcional para uma correta descrição destas moléculas.

As regras de nomenclatura podem ser entendidas como:

(1) Os anéis aromáticos das porfirinas são numerados por algarismos romanos que vão de I até IV, começando pelo anel aromático do topo e seguindo o sentido horário. (2) Às pontes de meteno são designadas letras gregas também seguindo o sentido horário. (3) As posições dos grupamentos pirrol disponíveis para ligação dos substituintes químicos podem ser numeradas de 1 a 8 também seguindo o sentido horário.

Os nomes dos substituintes mais comuns são muitas vezes abreviados (Fig. 2.9). Desta maneira, A é o ácido acético ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), P é o ácido propiônico ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), M e V são metil ($-\text{CH}_3$) e vinil ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), respectivamente. Dependendo do tipo, posição e ordem dos substituintes, as estruturas derivadas podem se classificar em:

- uroporfirina: quando contém somente os substituintes A e P.
- coproporfirina: contendo M e P (o substituinte A pode ter sido trocado por M):
- protoporfirina: contendo como substituintes M, P e V.

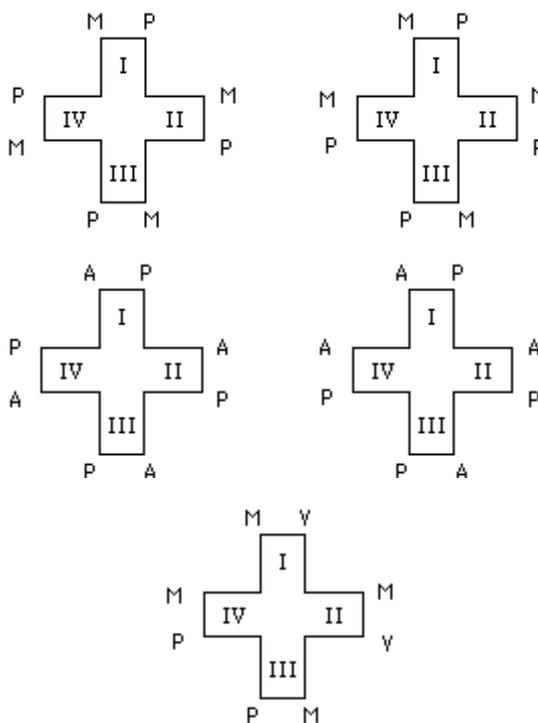


Figura 2.9

Esquema das porfirinas e seus possíveis substituintes. Acima: uro porfirinas; no centro copro porfirinas e abaixo protoporfirina. Adaptado de <http://www-medlib.med.utah.edu/NetBiochem/hi2.htm>

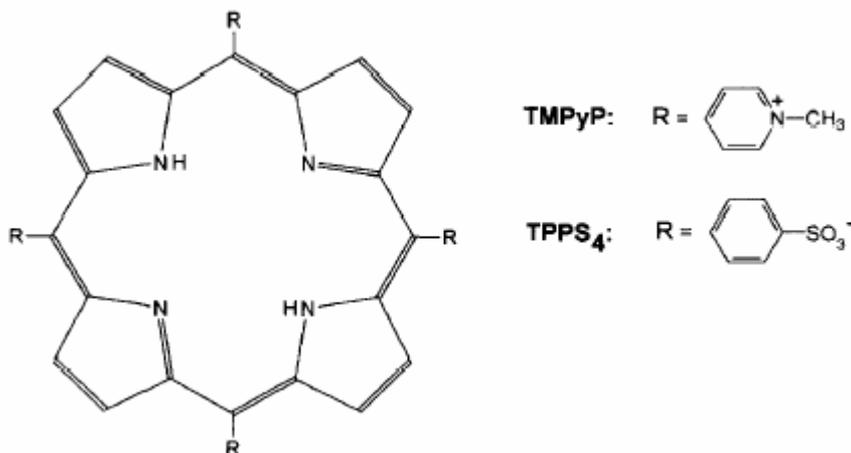


Figura 2.10

Estrutura das porfirinas TMPyP e TPPS₄. (Borissevitch et al., 1996)

Uma das mais recentes e promissoras aplicações das porfirinas na medicina, consiste da detecção e inativação de células tumorais (Bonnett, 2000; Boyle, 1996). A terapia fotodinâmica (PDT) é uma inovadora e atrativa modalidade para o tratamento desse mal (Ochsner, 1997). Desta maneira, quando em presença de oxigênio são administradas certas doses de foto-sensibilizadores a células tumorais, a irradiação de luz na faixa do visível, em presença de oxigênio, inativa estas células (Henderson, 1992; Weitemeyer, 1998).

2.2.2

As Ferro-porfirinas.

Além dos possíveis substituintes nas posições dos hidrogênios dos grupamentos pirrol, uma outra propriedade das porfirinas é aceitar um ligante no seu centro, podendo ser este um metal como cobre, zinco, ferro, entre outros.

Ligando-se aos átomos de nitrogênio, o metal ligante em questão e seus possíveis números de oxidação determinam o nome da porfirina metálica. Conforme já dito anteriormente, tanto as hemoglobinas quanto as mioglobinas apresentam suas atividades de transporte e armazenamento de oxigênio mediadas pelo átomo de ferro no centro dos hemes. Então, se o metal incorporado ao centro pirrol é, por exemplo, o ferro, este complexo metálico pode ser considerado como um modelo para hemes. Alguns radicais iônicos podem ser incorporados a porfirinas como meso-substituintes, tornando-as solúveis em água e simplificando

a análise das mudanças na conformação estrutural, provenientes de variações das condições externas como pH ou força iônica. O átomo Fe(III) no centro das ferro-porfirinas Fe-TPPS₄ e Fe-TMPyP (Fig. 2.11) interage com os radicais H⁺ e OH⁻, além de outros radicais. Essas ferro-porfirinas apresentam-se em um equilíbrio de formas, podendo formar μ -oxo dímeros quando em pH básico ou, simplesmente, em formas monoméricas em soluções ácidas.

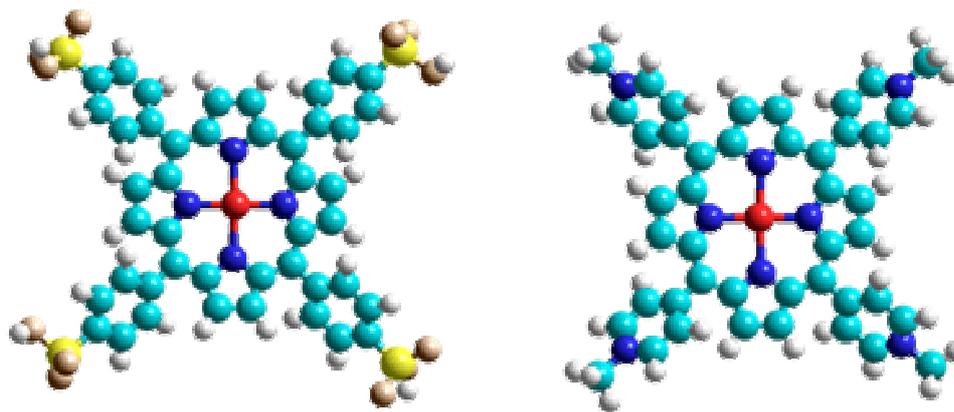


Figura 2.11

Esquema estrutural das ferro-porfirinas Fe-TPPS₄ e FeTMPyP. Apresentando em detalhe os átomos de carbono (azul claro); átomos de nitrogênio (azul escuro); átomo de ferro (vermelho); enxofre (amarelo); oxigênio (marrom) e hidrogênio (branco).

Alguns derivados metálicos das porfirinas, como os complexos de manganês(III) e de ferro (III) da meso-tetrakis (p-sulfonatofenil) porfirina, ou simplesmente TPPS₄, têm atraído uma significativa atenção, principalmente a partir da última década, devido às suas características de simular diversos sistemas biológicos como citocromos, clorofila, certas vitaminas, hemoglobina, entre outros, além da sua potencialidade como agente de contraste em MRI (Gandini et al., 2001). As ferro-porfirinas solúveis em água são, geralmente, complexos de Fe(III) spin alto, penta- ou hexa-coordenados em solução aquosa. O spin e o estado de valência do átomo de ferro podem mudar dependendo da natureza da ligação axial. Na ausência de ligantes fortes, as Fe(III) porfirinas em solução ácida são comumente monômeros, enquanto em solução básica formam μ -oxo dímeros. Várias espécies penta ou hexa-coordenadas tendo H₂O ou OH como ligantes axiais ocorrem dependendo do pH e dos substituintes do anel porfirínico. (Gandini et al., 2003).

O fenômeno de agregação tem um grande papel nas propriedades físico-químicas e no comportamento ótico das ferro-porfirinas (Gandini et al., 2001). Já foi mostrado em detalhes que a formação de agregados muda sensivelmente os espectros de absorção ótica (Brown et al., 1976). Além do comportamento monomérico e dimérico, alguns trabalhos voltaram-se para a investigação do transporte das porfirinas no sangue e de suas interações com os tecidos (Kongshaug, 1989; Korbelik, 1991). A ligação de algumas porfirinas e seus complexos metálicos com albumina também tem sido documentada (Lamola, 1981; Datta-Gupta, 1989; Borissevitch et al., 1998). A albumina sérica é conhecida como uma proteína capaz de ligar hemes. Estudos *in vitro* de porfirinas em solução contendo albumina modelam condições similares àquelas encontradas em tecidos biológicos (Reddi, 1987; Gottfried, 1988).

2.2.3

Hemoproteínas

As hemoproteínas são proteínas que possuem o heme como grupo prostético. Dentre estas destacamos em especial as hemoglobinas, agindo como carreadoras de oxigênio no sangue, as mioglobinas, responsáveis pelo armazenamento de oxigênio e os citocromos, que estão presentes na mitocôndria e no retículo endoplasmático, participando na transferência de elétrons (Palmer et al., 1971).

Hemoglobina e Mioglobina

A hemoglobina (Hb) é uma proteína tetramérica constituída por quatro cadeias polipeptídicas denominadas globinas, sendo duas do tipo alfa (com 141 resíduos de aminoácidos) e duas do tipo beta (com 146 resíduos de aminoácidos). A hemoglobina é uma proteína aproximadamente esférica, tendo um diâmetro de 55 Angströms e massa molecular de 64 KDaltons. As globinas estabelecem contatos entre si por meio de ligações não covalentes, tais como, interações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio e pontes salinas, que são responsáveis por manter a conformação oligomérica da Hb. Cada globina possui o grupo heme.



Figura 2.12

Estrutura quaternária da hemoglobina, com quatro cadeias (duas α e duas β), cada uma contendo o grupo heme. <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=213>

O heme, na Hb pode apresentar-se nas formas férrica ou ferrosa, dependendo do ligante na sexta posição de coordenação. Na quinta posição de coordenação, o heme liga-se a um átomo de nitrogênio de uma histidina (a histidina proximal F8), sendo que na sexta posição de coordenação o heme aceita como ligantes o oxigênio, o monóxido de carbono, o óxido nítrico, a água entre vários outros, estando ainda a histidina distal (E7) próxima a esta posição de coordenação (Fig. 2.13).

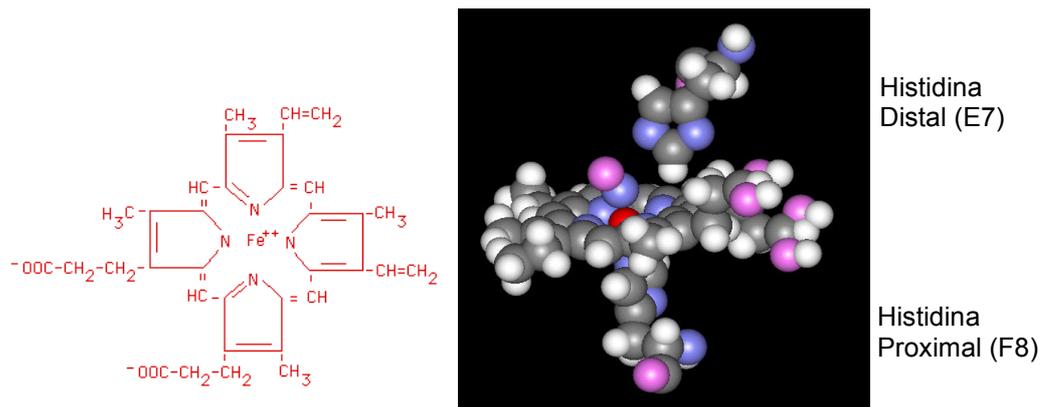


Figura 2.13

Esquema do heme (www-medlib.med.utah.edu/NetBiochem/hi2.htm), à esquerda, e a estrutura de nitrosil heme em hemoglobina, com as histidinas distal, E7, e proximal, F8 (da Silva, 1999), à direita (■ carbono, ■ nitrogênio, ■ oxigênio, ■ ferro, ■ hidrogênio).

A principal função da hemoglobina é transportar o oxigênio (O₂), o oxigênio liga-se ao átomo de ferro ferroso, nos pulmões, onde o oxigênio é abundante, sendo liberado mais tarde nos tecidos que necessitam do oxigênio para a respiração celular. A hemoglobina também transporta CO₂ e íons como função secundária. No caso do CO₂, a hemoglobina o recolhe para liberá-lo no pulmão e daí para fora do corpo por expiração. A hemoglobina também está envolvida no transporte de íons hidrogênio H⁺.

A mioglobina recebe oxigênio da hemoglobina e o aloja nos tecidos até que esta molécula de oxigênio seja requisitada para atividades metabólicas. Essa proteína aparece em grandes quantidades nos músculos que possuem atividade rítmica e longos períodos de contração e nos músculos esqueléticos de animais mamíferos que fazem apnéia (parada momentânea da respiração) como baleia, foca e o hipopótamo. O oxigênio molecular liga-se ao átomo de ferro presente na protoporfirina IX, que constitui o grupo heme responsável pela cor característica da molécula de mioglobina.

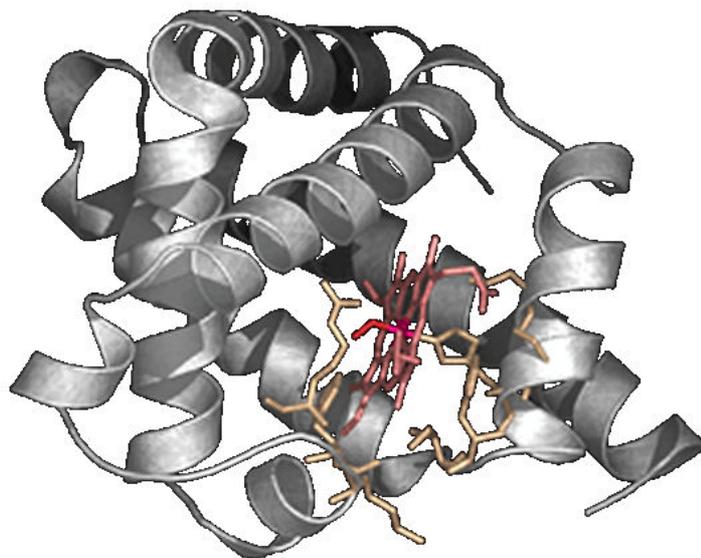


Figura 2.14

Estrutura tridimensional da molécula de mioglobina, mostrando o grupo heme e as histidinas proximal (à direita do heme) e distal (à esquerda)

www.chem.ucsb.edu/~molvisual/prot_struc.html

A mioglobina tem uma única cadeia de 153 aminoácidos enovelada ao redor do heme. Este imenso arranjo protéico tem uma forma globular, com uma fenda onde se insere o grupo heme. A forma globular dessa proteína provém do fato de que os aminoácidos que a formam são alguns hidrofílicos e outros hidrofóbicos. Desta forma, os hidrofóbicos ficam em posições não acessíveis a água e os hidrofílicos ficam expostos, minimizando a energia livre total do sistema. O heme está inserido na cadeia polipeptídica, ligado por duas histidinas, que são polares. Uma delas, a proximal (F8) coordena-se com o átomo de ferro, enquanto a outra chamada de histidina distal (E7) não se coordena diretamente com o ferro. A Fig. 2.14 ilustra a estrutura tridimensional da molécula de mioglobina.

A albumina.

As propriedades fisiológicas da albumina foram reconhecidas pela primeira vez em 1837 por Ansell (Ansell, 1840) e, a partir de então, sua complexidade vem sendo revelada. No entanto, o seu papel fisiológico ainda não é totalmente conhecido, despertando, ainda hoje, a curiosidade de muitos pesquisadores (Kaysen, 2002).

A albumina é a mais abundante proteína plasmática, perfazendo um total de 50% das proteínas totais do soro humano. Sua molécula é formada por uma cadeia de 584 aminoácidos, constituindo-se de um único polipeptídeo com massa molecular em torno de 69 kDa, onde predominam α -hélices sustentadas e unidas por 17 pontes dissulfeto (Doweiko & Nompleggi, 1991).

A albumina está envolvida no transporte de uma ampla variedade de substâncias fisiológicas: moléculas lipossolúveis como os ácidos graxos de cadeia longa, hormônios como a tiroxina, o cortisol e a aldosterona e pequenos íons como o cálcio, o cobre, o níquel e o zinco. Muitas drogas também se ligam à albumina, havendo competição pelos seus sítios de ligação, tanto entre elas, quanto entre as drogas e os ácidos graxos de cadeia longa.

Na Figura 2.15 apresentamos um esquema da estrutura da albumina humana (HSA), complexada com ácidos graxos e com hemina. A albumina bovina tem estrutura muito semelhante à humana.

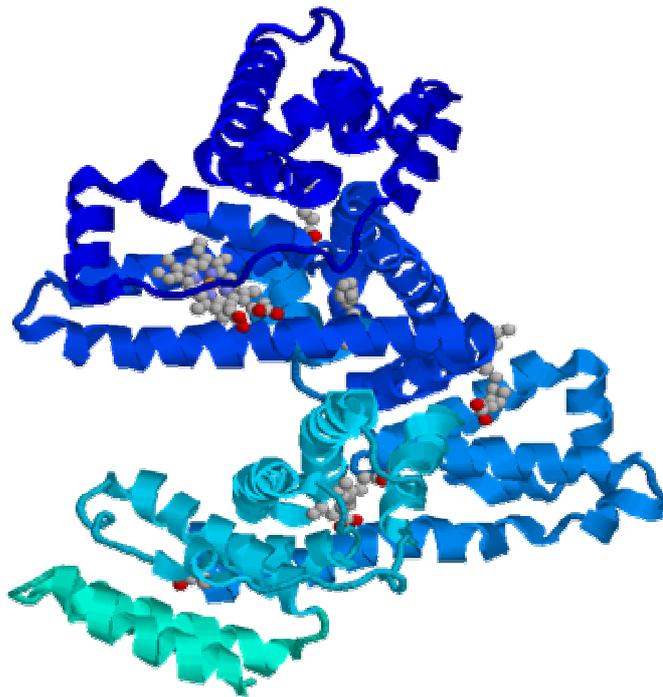


Figura 2.15: Albumina humana complexada com ácidos graxos e hemina (RCSB Protein Data Bank, 109X).

2.2.4

A nitrosilação de Fe-porfirinas por gás NO

Muitos trabalhos têm sido publicados descrevendo a nitrosilação de metaloporfirinas, em geral, e de hemes, em particular, no estado férrico e ferroso por gás NO (Nakagawa et al., 2003). Inclusive em 1999 foi publicado um artigo de revisão (Cooper, 1999) relatando a grande afinidade e detalhando a ligação de NO a hemes no estado ferroso, com constantes de associação da ordem de 10^9 a 10^{12} M^{-1} . O NO aproxima-se da sexta posição de coordenação do centro do heme (no estado ferroso Fe^{+2}). Ao ligar-se então, pode desestabilizar a ligação de um ligante na quinta posição de coordenação. Ao fim da reação tem-se um heme nitrosilado com Fe(II) pentacoordenado (Fig. 2.16). Especialmente em proteínas, nem sempre o enfraquecimento da ligação simétrica ao NO provoca sua ruptura e o Fe(II) nitrosilado continua hexacoordenado. Observando a Fig. 2.16, podemos afirmar que uma molécula de NO é suficiente para nitrosilar o heme ferroso.

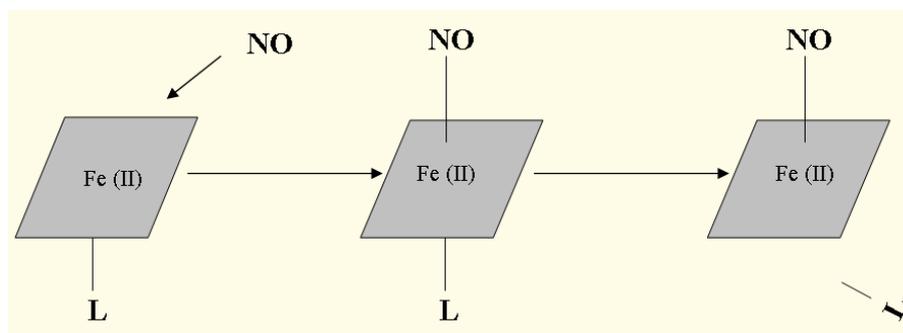


Figura 2.16

Ligação de NO a hemes no estado ferroso (Fe^{+2}). Adaptado de (Cooper, 1999).

No caso de hemes no estado férrico ou Fe(III) , NO também se liga reversivelmente, mas a afinidade é bem menor, com constantes de associação da ordem de 10^4 a 10^6 M^{-1} (Cooper, 1999). O processo de nitrosilação que leva à formação de NOFe(II) -porfirina (nitrosilação redutiva), no entanto, pode ser mais complicado (Fig. 2.17). Em excesso de NO, a nitrosilação de porfirinas férricas implica em redução para o estado ferroso com formação de NOFe(II) porfirina. O processo consome duas moléculas de NO por molécula de porfirina (Lim et al., 2005; Hoshino et al., 1993), como representado na Fig. 2.17 e descrito a seguir.

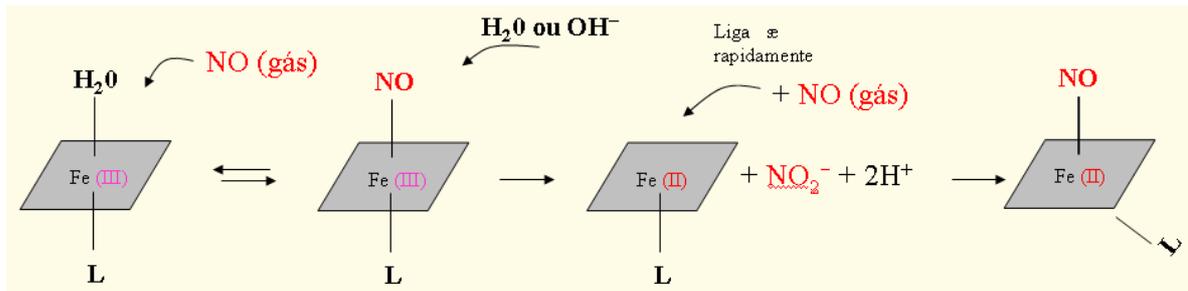


Figura 2.17

Esquema de ligação de NO gás a hemes no estado férrico (Fe^{+3}).

Inicialmente, o heme férrico está ligado a uma molécula de água na sexta posição de coordenação. O átomo de NO que se aproxima e desloca H_2O dessa posição de coordenação formando o complexo nitrosilado, que tem sido proposto como $\text{NO}^+\text{Fe(II)}$ porfirina. O NO (provavelmente NO^+) ligado ao ferro no centro do heme tem sua ligação quebrada por água (hidrólise) ou pelo radical hidroxila, deixando o heme no estado ferroso e produzindo NO_2^- . Como a afinidade do NO por hemes no estado ferroso é muito grande, NO em excesso liga-se rapidamente a elas, ocupando novamente a sexta posição de coordenação. A ligação ao átomo de ferro no centro do heme já reduzido (Fe^{+2}) desestabiliza a ligação na quinta posição de coordenação.

2.3

Biomembranas e Micelas

2.3.1

Membranas biológicas

A membrana plasmática cumpre uma vasta gama de funções. A primeira, do ponto de vista da própria célula é que ela dá individualidade a cada célula, definindo meios intra e extracelular. Ela forma ambientes únicos e especializados, cuja composição e concentração molecular são consequência de sua permeabilidade seletiva e dos diversos meios de comunicação com o meio extracelular. Além de delimitar o ambiente celular criando compartimentos para moléculas, a membrana plasmática representa o primeiro elo de contato entre os meios intra e extracelular, transduzindo informações para o interior da célula e permitindo que esta responda a estímulos externos.

Também nas interações célula-célula e célula-matriz extracelular a membrana plasmática participa de forma decisiva. É, por exemplo, através de componentes da membrana que células semelhantes podem se reconhecer para, agrupando-se, formar os tecidos. A manutenção da individualidade celular, assim como o bom desempenho das outras funções da membrana, requerem uma combinação particular de características estruturais da membrana plasmática. Ao mesmo tempo em que a membrana precisa formar um limite estável, ela precisa também ser dinâmica e flexível. A combinação destas características é possível devido à sua composição química.

Composição química e estrutura da membrana plasmática

As membranas celulares consistem de uma dupla camada contínua de lipídios, com a qual proteínas e carboidratos das mais diversas naturezas interagem das mais diversas maneiras. Justamente a bicamada lipídica é que confere ao mesmo tempo estabilidade e flexibilidade à membrana. Pode-se dizer que os lipídios são os componentes que compõem a estrutura básica da membrana, principalmente os fosfolipídios, totalizando 25% a 40% do total e as proteínas

60% a 75%. Por isso, as membranas celulares são denominadas lipoprotéicas, pois representam uma associação entre lipídios e proteínas.

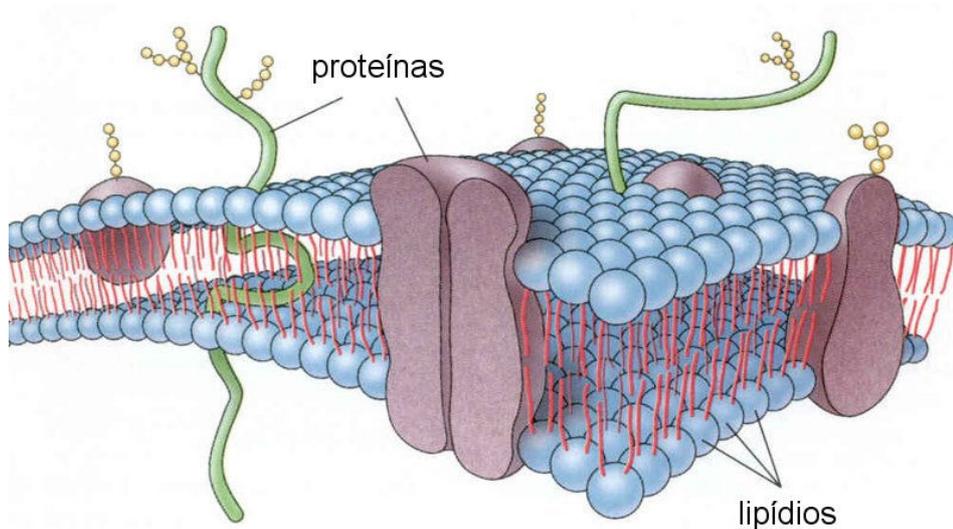


Figura 2.18

Estrutura da membrana plasmática, segundo o Modelo de Mosaico Fluido de Singer e Nicholson, 1972 (adaptada de www.cropsci.uiuc.edu/classes/cpsc112/Topicpages/form-function.cfm).

A molécula de lipídio possui características estruturais necessárias para formar uma bicamada estável, ainda que fluida. Ela é anfipática, ou seja, possui uma região hidrofílica e caudas hidrofóbicas. Enquanto que a região hidrofílica interage bem com a água, altamente abundante nos meios intra e extracelular, a região hidrofóbica apresenta repulsão à água. A tendência natural dessas moléculas anfipáticas, de atingir um estado que seja energeticamente estável e termodinamicamente favorável, faz com que elas se arranjam na forma de bicamada. A estabilidade é, então, dada pela necessidade termodinâmica do próprio lipídio em manter suas regiões hidrofílica e hidrofóbica em posições adequadas em relação à água. Dessa forma, se a bicamada lipídica sofrer um dano, onde algumas moléculas são removidas, sua tendência natural é a de se regenerar.

anfipáticas. Inúmeras funções são desempenhadas pelas proteínas de membrana: elas comunicam célula e meio extracelular, servindo como poros e canais, controlam o transporte iônico, servem como transportadoras, realizam atividade enzimática e ainda podem ser antigênicas, eliciando respostas imunes.

Os carboidratos, que são exclusivamente encontrados na monocamada externa de membranas plasmáticas, interagem ora com proteínas (glicoproteínas), ora com lipídios, formando uma estrutura denominada glicocálice. O glicocálice desempenha inúmeras funções que refletem, na verdade, funções desempenhadas por seus componentes. O glicocálice é importante na adesão e reconhecimento celular, na determinação de grupos sanguíneos, entre outras funções.

2.3.2

Micelas, um modelo de membranas

Como vimos anteriormente, o estudo das membranas biológicas é dificultado pela diversificada composição, estrutura e funcionalidade que estas apresentam. Então, torna-se extremamente útil o uso de modelos mais simples, que permitam uma investigação de alguns dos fenômenos relacionados a estas complicadas estruturas.

Moléculas de surfactantes, ou detergentes, assim como os lipídios, são moléculas anfifílicas, com característica dual, parte hidrofóbica e parte hidrofílica. Elas exibem algumas características fascinantes por causa da sua tendência de associação quando em presença de água ou de solventes apolares. A estrutura final dos agregados supramoleculares é microscopicamente ordenada, formando micelas, bicamadas, microemulsões e vesículas (Fig. 2.20).

Estas estruturas são determinadas pela natureza do monômero do surfactante, pela natureza do solvente e também por possíveis íons vizinhos. Os agregados de surfactantes constituem meios ordenados, que reproduzem a habilidade organizacional das membranas (Fendler, 1986; Fuhrhop & Koning, 1994; Fendler, 1987). Uma vez formadas estas estruturas, ocorrerá a produção de um novo meio no qual razões de reação, constantes de equilíbrio, produtos formados e parâmetros espectrais podem ser alterados (Pramauro & Pelizzetti, 1996; Medel, A. S. et al., 1993; Hinze, W. L 1979). Dentre os agrupamentos organizados de surfactantes existentes, como os mostrados esquematicamente na

Fig. 2.20, micelas e vesículas são possivelmente os meios organizados mais interessantes e os mais investigados.

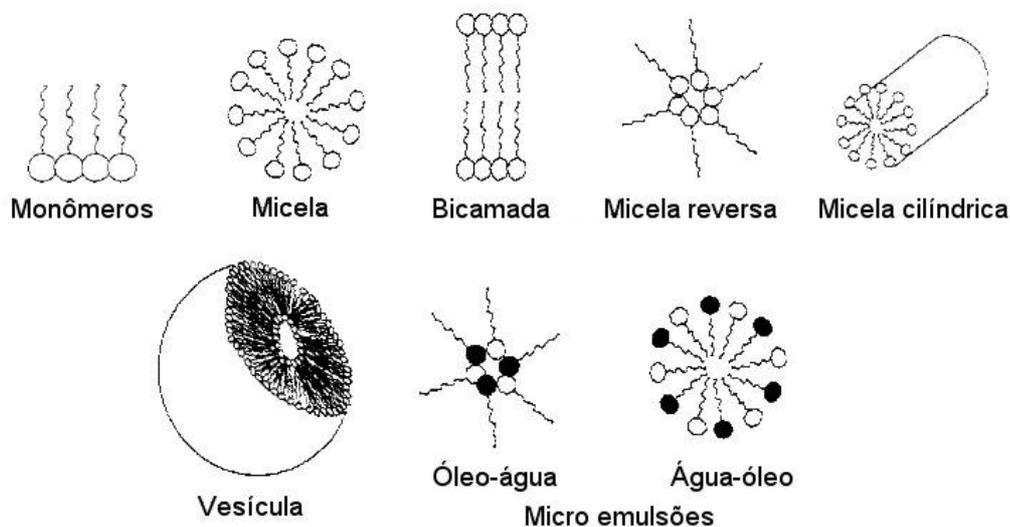


Figura 2.20

Representação esquemática de algumas estruturas organizadas de surfactantes (Medel et al., 1999)

Micelas são estruturas microscopicamente organizadas formadas pela auto-agregação de moléculas anfifílicas. O modelo mais aceito para sua microestrutura (Tanford, 1980) consiste de um núcleo apolar, contendo as cadeias hidrofóbicas, circundado por uma camada polar (camada de Stern) formada pelos grupos polares dos surfactantes, dissociados ou não, e algumas moléculas do solvente. A penetração de água nessa camada é apreciável.

Moléculas de surfactantes existem como monômeros em soluções muito diluídas, mas quando sua concentração excede um determinado mínimo (chamado de concentração micelar crítica, cmc), estes monômeros associam-se espontaneamente dando forma a agregados de dimensões coloidais. Quando a concentração de surfactante aumenta e atinge a concentração micelar crítica, a adição de novos monômeros resulta na formação de novas micelas, de tal maneira que a concentração de monômeros permanece essencialmente constante e aproximadamente igual à cmc. Isto é, as micelas estão em equilíbrio dinâmico com os monômeros dissolvidos do surfactante, que permanecem em uma concentração aproximadamente constante após a cmc ter sido alcançada.

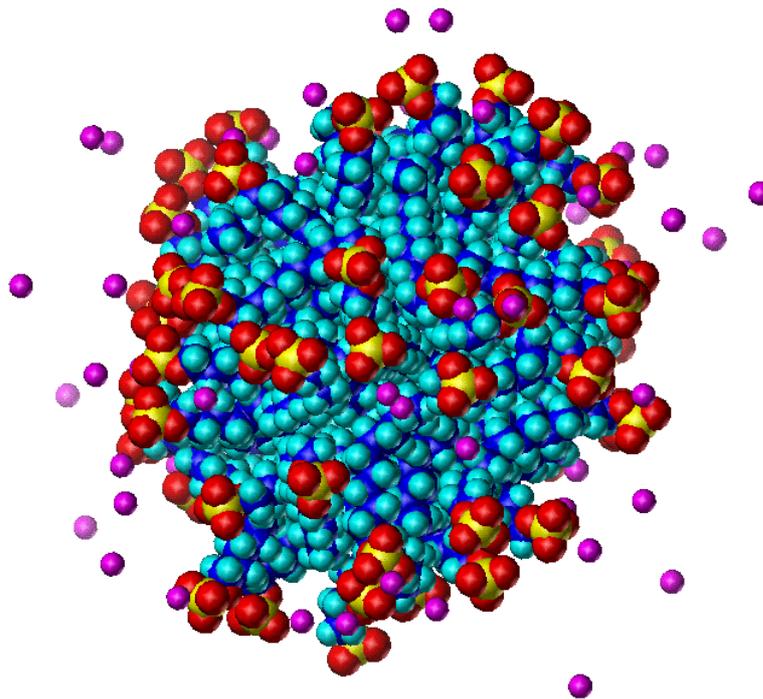


Figura 2.21
Estrutura da micela de SDS (simulação, www.psc.edu).

A principal razão que leva os monômeros de surfactante a se associarem é a diminuição da área de contato entre as cadeias hidrocarbônicas do surfactante e a água (efeito hidrofóbico). A formação do agregado, porém, leva o surfactante a uma situação em que os grupos hidrofílicos (cabeças) estão muito próximos, gerando uma repulsão eletrostática que se opõe ao processo de micelização. Os contraíons desempenham então um papel fundamental: quando em concentração suficiente (proviniente da própria ionização do surfactante ou, ainda, adicionados à solução), blindam a carga do agregado, diminuindo o potencial elétrico e a repulsão entre as cabeças dos monômeros. A camada difusa, que contém uma distribuição de íons positivos e negativos em concentrações diferentes do "bulk", é denominada de camada de Gouy-Chapman.

Micelas são capazes de solubilizar espécies de vários tamanhos e polaridades, sendo esta variedade de espécies limitada pelo tamanho relativamente pequeno das micelas (número de agregação, que é o número de monômeros por micela, podendo variar de 50 até 2000).

A aplicação de ondas de ultra-som, em bicamadas lipídicas ou em surfactantes sintéticos com cadeias de ramificações duplas, pode formar estruturas fechadas chamadas de vesículas. A estrutura e formação de uma vesícula estão ilustradas na Fig. 2.22. As vesículas podem ser visualizadas como duas esferas concêntricas de moléculas anfífilas nas quais as seções lipídicas estão em contato. Enquanto os grupos polares na superfície externa estão em contato com a fase aquosa "bulk", os grupos polares internos encerram uma fase aquosa interna. As vesículas apresentam algumas características que as fazem potencialmente úteis como meios ordenados. Apresentam também muitas vantagens sobre outros tipos de meios organizados em algumas aplicações. Vesículas são grandes agregados (com o número de agregação superior a 2500-3000 monômeros) e, conseqüentemente, são capazes de solubilizar solutos de vários tamanhos. A combinação do tamanho da vesícula com a diversidade estrutural, produzida pela organização dos grupamentos polares e apolares, promove solubilização específica de solutos na vesícula.

Vesículas, em geral, são bem menos dinâmicas que as micelas, e formam agregados mais estáveis. A dinâmica de interação de solutos com as vesículas é controlada pela estabilidade cinética vesicular. Esta interação, responsável pela manutenção de solutos no interior de vesículas, é bem maior do que nas micelas. Enquanto o tempo de residência de uma molécula anfífila em micelas é da ordem de mili-segundos, o tempo de residência nas vesículas é da ordem de minutos ou horas (Fendler, 1986). Além disso, vesículas oferecem um grande número de locais para solubilização de solutos, como ilustrado esquematicamente na Fig. 2.23, que mostra como um soluto pode se acomodar em uma micela ou em uma vesícula.

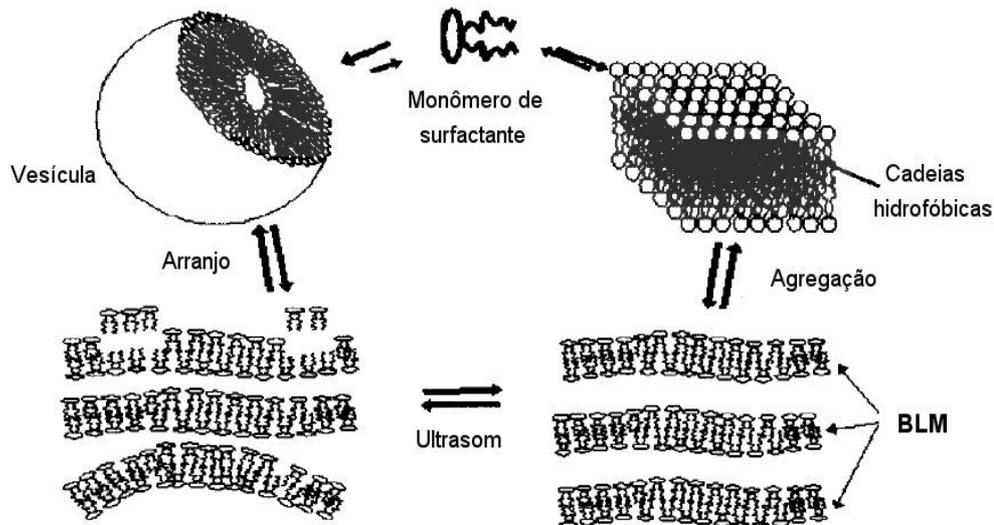


Figura 2.22

Formação de vesículas por sonicação (ultra-som). (Medel et al., 1999)

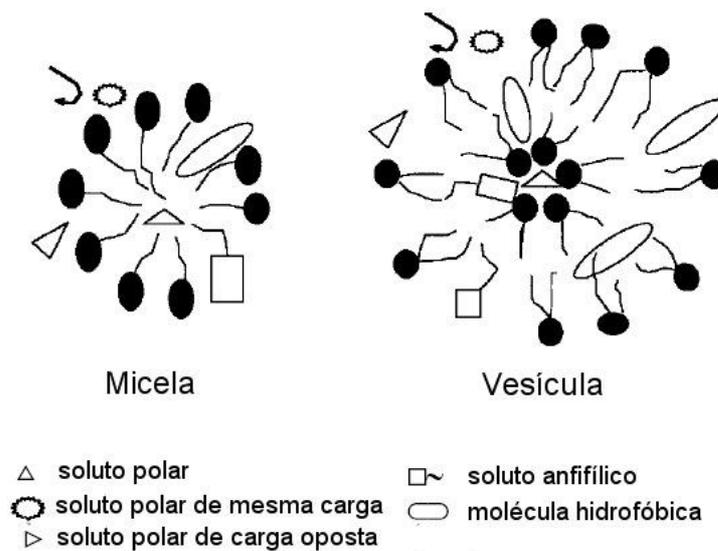


Figura 2.23

Comparação entre os sítios de solubilização de diferentes analitos em micelas e vesículas. (Medel et al., 1999)

Estruturas organizadas de surfactantes têm sido usadas em inúmeras aplicações científicas, biotecnológicas, farmacêuticas e industriais.

