

- Revisão
- [Acesso aberto](#)
- [Publicado em: 19 dezembro 2014](#)

Era uma vez as membranas celulares: 175 anos de pesquisa de contorno celular

- [Jonathan Lombard \(tradução\)](#)

Biologia Direta volume 9, número do artigo: 32 2014(2014) [Cite este artigo](#)

- 49k Acessos
- 87 Citações
- 7 Altmetrico
- [Detalhes de métricas](#)

Abstrato

Todas as células modernas são limitadas pelas membranas celulares melhor descritas pelo modelo de mosaico de fluidos. Esta afirmação é tão amplamente aceita pelos biólogos que pouca atenção é geralmente dada à importância teórica das membranas celulares na descrição da célula. Isso nem sempre foi assim. Quando a Teoria Celular foi formulada pela primeira vez no thséculo XIX, quase nada se sabia sobre as membranas celulares. Não foi até bem no thséculo XX que a existência da membrana plasmática foi amplamente aceita e, mesmo assim, o modelo de mosaico fluido não prevaleceu até a década de 1970. Como foram considerados os limites celulares entre a articulação da Teoria Celular por volta de 1839 e a formulação do modelo de mosaico fluido que descreve as membranas celulares desde 1972? Nesta revisão vou resumir as principais descobertas históricas e teorias que abordaram a existência e estrutura das membranas e vou analisar como essas teorias impactaram a compreensão da célula. Além de sua relevância puramente histórica, esse relato pode fornecer um ponto de partida para considerar o significado teórico das membranas para a definição da célula e pode ter implicações para a pesquisa no início da vida.

Os revisores

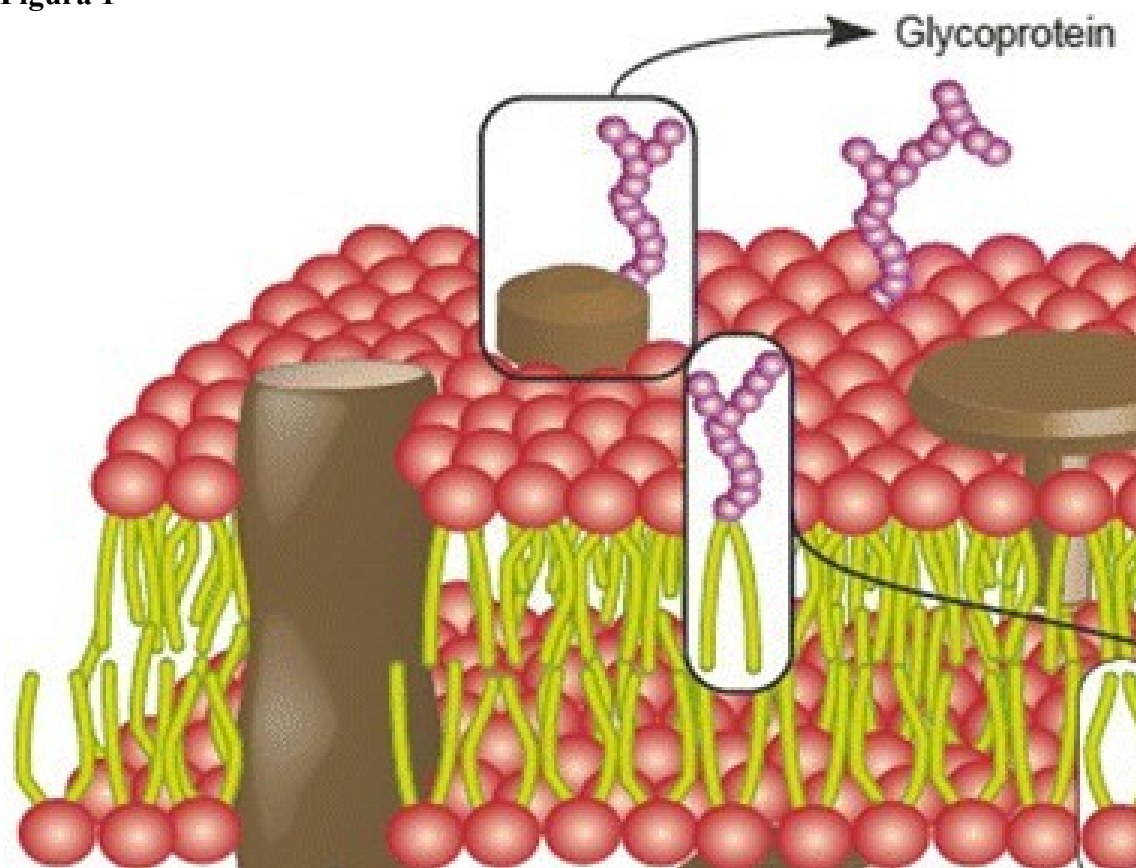
Este artigo foi revisto pelo Dr. Étienne Joly, Dra. Eugene V. (emo) O Koonin e o Dr. Armen Mulikidjanian (em viagem de brincadeiras).

Introdução

As descrições modernas da célula estão intimamente relacionadas com a noção de membranas celulares. A membrana celular não é apenas o limite da unidade de vida, é também um compartimento específico que abriga muitas funções celulares essenciais, incluindo a comunicação com o ambiente, o transporte de moléculas e certas funções metabólicas. Hoje em dia, o modelo consensual para representar a estrutura e as funções da membrana é chamado de “modelo de mosaico fluido” [1](#)[1].

A hipótese do mosaico fluido foi formulada por Singer e Nicolson no início dos anos 1970¹. De acordo com este modelo, as membranas são compostas por lipídios, proteínas e carboidratos (Figura 1). Os principais componentes da membrana lipídica são os fosfolipídios. Essas moléculas são anfifílicas, ou seja, têm uma parte polar atraída pela água (hidrofílica) e um componente apolar repelido pela água (hidrofóbica). Quando são diluídos em água, os anfifílicos adotam espontaneamente a estrutura molecular mais termodinamicamente estável, ou seja, a que maximiza as interações hidrofílica e hidrofóbicas [2]. Essas interações podem ser afetadas por vários parâmetros, como a natureza química das moléculas, seu tamanho, a salinidade e o pH da solução. Em condições biológicas, os fosfolipídios celulares formam uma bicamada na qual as caudas hidrofóbicas se enfrentam no núcleo da estrutura, enquanto as cabeças hidrofílicas interagem com a água circundante (Figura 1). Como as proteínas também são moléculas anfifílicas, as mesmas restrições se aplicam a elas. Algumas proteínas (chamadas intrínsecas ou integrais) são incorporadas na matriz lipídica da bicamada, onde são capazes de estabelecer interações hidrofóbicas e hidrofílicas com suas respectivas contrapartes lipídicas. Outras proteínas, chamadas proteínas extrínsecas ou periféricas, também podem estar transientemente associadas com superfícies de membrana através de interações mais fracas (Figura 1). Finalmente, os carboidratos podem ser ligados a proteínas ou lipídios, resultando em glicoproteínas ou glicolipídeos.

Figura 1



Modelo de mosaico fluido. Visão esquemática da estrutura da membrana biológica como atualmente descrita.

[Imagem de tamanho completo](#)

O termo “mosaico” deste modelo refere-se à mistura de lipídios e proteínas intrínsecas na membrana. Esses limites também são “fluidos” porque seus componentes podem se mover lateralmente, permitindo a difusão de componentes e reuniões específicas locais. Outros lipídios, como o colesterol, atuam como reguladores de fluidez da membrana. Os movimentos fosfolípidos são geralmente restritos à deriva lateral, porque a cruz da membrana de um lado para o outro requer o contato transiente energeticamente desfavorável de sua cabeça hidrofílica com o núcleo da membrana hidrofóbica. Assim, a transferência de moléculas de um lado da membrana para o outro geralmente envolve a atividade de algumas proteínas de membrana integrais específicas, chamadas flippases [3](#)[3]. Pelas mesmas razões, as proteínas integrais podem se difundir dentro da matriz lipídica, mas raramente mudam sua polaridade de um lado da membrana para o outro. Como resultado, a composição lipídica, proteica e carboidrato são diferentes entre as duas monocamadas, uma característica que é referida como assimetria de membrana.

As funções de membrana são extremamente diversas. Como bordas celulares, as membranas controlam as trocas moleculares com o ambiente, resultando na regulação do pH celular e na homeostase osmótica. As membranas são “barreiras seletivas”: concentram nutrientes dentro da célula, excluem os resíduos celulares, mantêm os gradientes iônicos e os transformam em energia química. Uma vez que permitem a transdução de muitos estímulos externos em sinais celulares, eles também são atores importantes nas respostas da célula ao seu ambiente. Além disso, sua composição também transforma as membranas no principal compartimento apolar do meio celular proeminentemente aquoso, concentrando assim a maioria dos pigmentos lipídicos (por exemplo, clorofila) e proteínas hidrofóbicas. A presença dessas moléculas nas membranas dobra sua função delimitante com atividades essenciais metabólicas e bioenergéticas.

Exceto por alguns autores raros que ainda imaginam a célula como uma rede de colóides [4](#)[4], há atualmente pouco desacordo de que as membranas são partes essenciais de todas as células contemporâneas. Apesar dessa aceitação básica em relação às células modernas, temos testemunhado nos últimos anos um forte debate questionando a presença de membranas semelhantes no último ancestral comum dos organismos vivos, ou seja, o cenários. Argumentando sobre a presença ou ausência de membranas em organismos primitivos – não apenas o cenários, mas também os organismos anteriores mais próximos no tempo das origens da vida – desafia o que consideramos ser a unidade básica da vida, ou seja, a célula. Infelizmente, como a falta de membranas é geralmente inquestionável nos organismos modernos, hoje em dia é difícil encontrar discussões sobre a importância teórica das membranas.

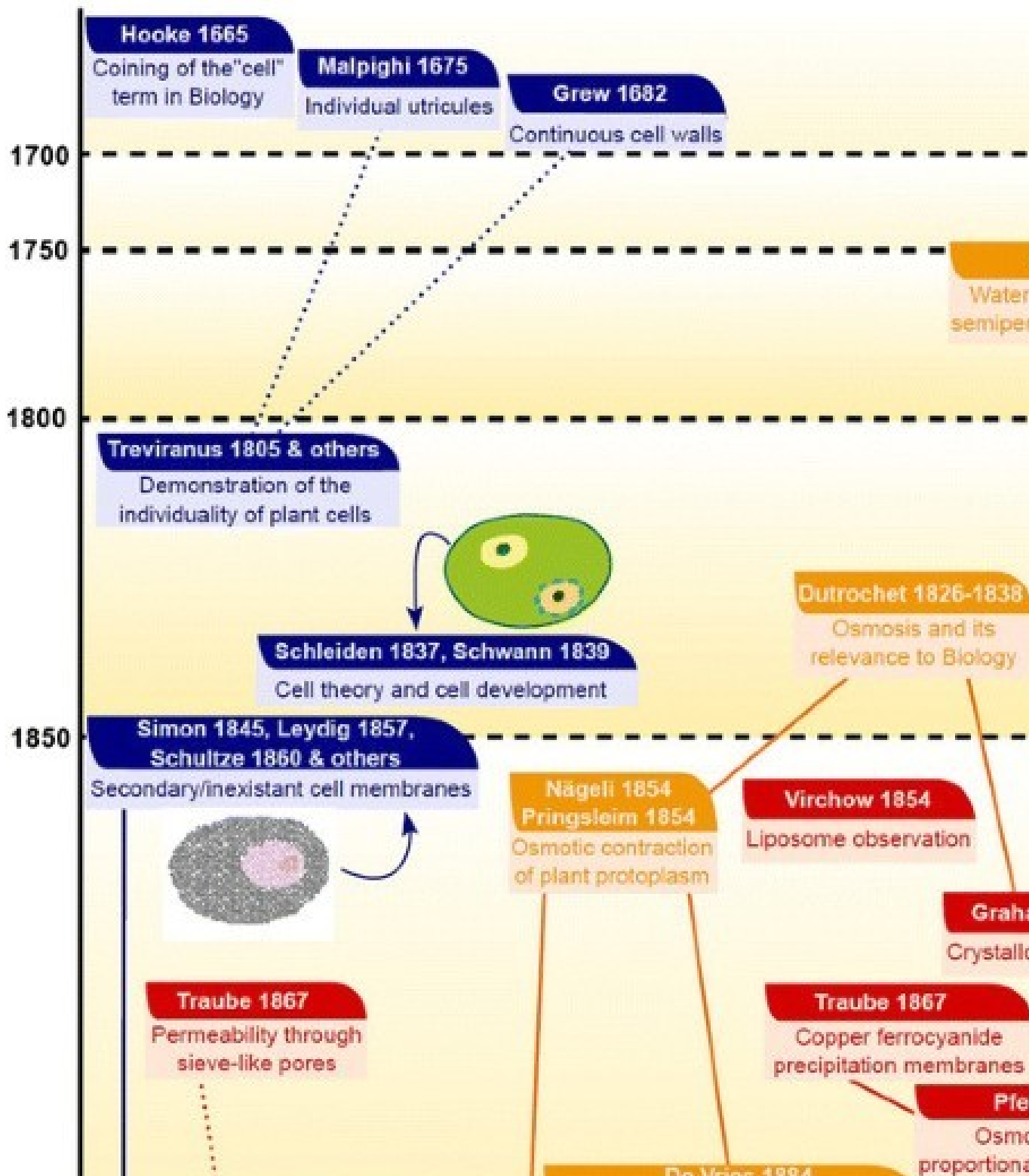
A atenção limitada atualmente dada às membranas na definição do conceito celular contrasta muito com a importância que esta questão teve nos primeiros estudos celulares. De fato, quando a Teoria Celular foi formulada há 175 anos no thséculo XIX, a realidade da membrana era desconhecida. Seu caráter universal não era geralmente reconhecido até o thséculo XX, e mesmo quando as células eram consideradas limitadas por algum tipo de membrana, o modelo de mosaico fluido não era aceito até a década de 1970. A questão natural, então, é: como foram imaginados os limites celulares entre a formulação da Teoria Celular por volta de 1839 e a predominância final do modelo de mosaico fluido em 1972? Nesta revisão, vou fornecer algumas respostas a esta pergunta que eu acho que será útil de três maneiras diferentes. Primeiro, ele estenderá consideravelmente o alcance de algumas publicações recentes, [56a](#) fim de fornecer um

relato mais completo da descoberta de membranas e sua estrutura; Em segundo lugar, sugerirei que, ao contrário das idéias favorecidas em alguns artigos, a descoberta de membranas biológicas não foi tão um processo cumulativo linear como tem sido geralmente descrito; E terceiro, espero que o reconhecimento da importância do conceito de fronteira celular sobre as concepções modernas de células forneçam uma membrana. Espero que isso abra novas perspectivas para o campo estimulante das origens da vida.

Revisão

Nas próximas seções, revisarei as principais descobertas que levaram ao nosso atual modelo de membranas biológicas: (1) o longo caminho desde os pressupostos originais sobre os limites celulares no início da Teoria Celular até a primeira evidência que sustentou a existência de membranas; (2) estudos iniciais sobre a estrutura da membrana celular; (3) como as evidências dos estudos de permeabilidade construíram progressivamente uma visão alternativa dos limites celulares – distintiva do modelo favorecido no campo dos estudos de membranas; e (4) como o modelo de mosaico fluido surgiu. Como mostrado nas seções abaixo, muitos autores provenientes de diferentes campos contribuíram para a nossa compreensão das membranas ao longo dos séculos. O leitor encontrará uma linha do tempo resumindo as contribuições mais dramáticas para o conhecimento da membrana até 1972 nas Figuras [2](#) e [33](#).

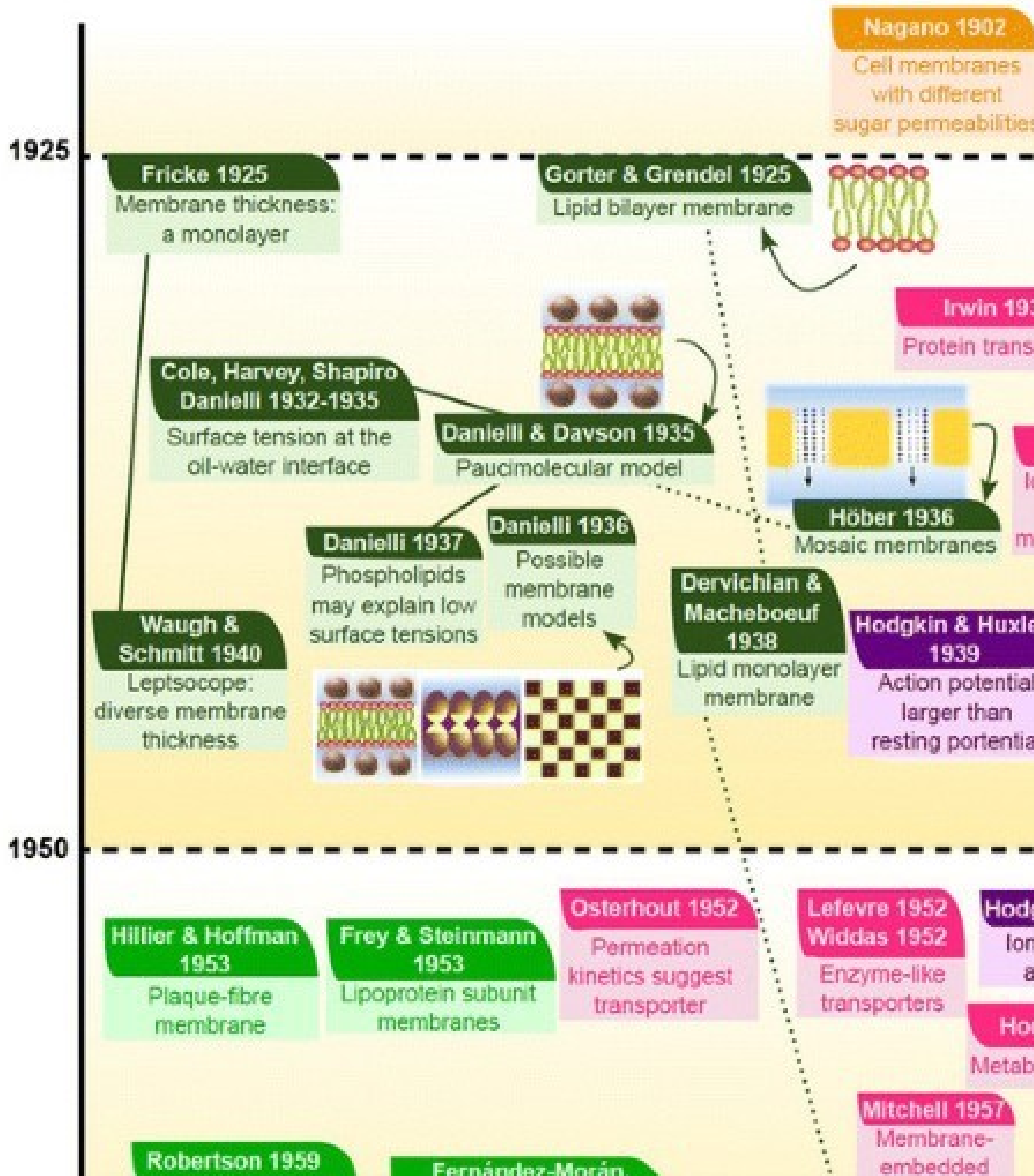
Figura 2



Cronologia 1665-1925. Resumo das principais contribuições relacionadas à descoberta da membrana celular entre a cunhagem do termo “célula” em biologia e os primeiros estudos sobre estruturas de membranas celulares. Os eventos são aproximadamente ordenados de cima para baixo dos eventos anteriores para o mais recente. Embora os estudos às vezes sejam difíceis de classificar, as cores das caixas refletem alguns dos principais eixos de pesquisa influentes nessa história: **azul escuro**, dúvidas sobre a existência de membranas celulares; **laranja**, estudos osmóticos; **vermelho**, estudos com

membranas artificiais; **roxo**, obras de eletrofisiologia; **verde escuro**, descrição direta das membranas. Embora a maioria dessas contribuições fosse altamente interconectada, as linhas completas entre as caixas destacam relacionamentos particularmente importantes e linhas frustradas apontam para visões contraditórias nas principais controvérsias.

[Imagem de tamanho completo](#)
Figura 3



Cronologia de 1925 a 1972. Resumo das principais contribuições relacionadas à descoberta da membrana celular entre os primeiros estudos sobre estruturas de membranas celulares e a formulação do modelo de mosaico fluido. Os eventos são aproximadamente ordenados de cima para baixo dos eventos anteriores para o mais recente. Embora os estudos às vezes sejam difíceis de classificar, as cores das caixas refletem alguns dos principais eixos de pesquisa afluentes nessa história: **laranja**, estudos osmóticos; **vermelhos**, estudos com membranas artificiais; **púrpura**, eletrofisiologia; **verde escuro**, descrição direta das membranas; **rosa**, algumas teorias transportadoras; **azul claro**, debate de distribuição iônica; **estudos de microscopia de elétrons claros** verdes claros. Embora a maioria dessas contribuições fosse altamente interconectada, as linhas completas entre as caixas destacam relacionamentos particularmente importantes e linhas frustradas apontam para visões contraditórias nas principais controvérsias.

[Imagem de tamanho completo](#)

Um tempo antes da membrana celular

É surpreendente notar que a maioria dos relatos curtos de descoberta de membrana celular mal discutem as controvérsias iniciais sobre a existência de membranas ao redor das células [5](#)[5]-[10](#)[10]. Por um lado, a maioria dos artigos que tratam da caracterização das membranas pressupõe que as membranas celulares eram corolários da Teoria Celular. Por outro lado, muitos autores que estudam a Teoria Celular consideram que os meros estudos osmóticos ou permeabilidade do final do thséculo XIX são suficientes para extinguir relutâncias anteriores à existência de membranas. Nesta seção, veremos que a existência de membranas plasmáticas parecia ser um postulado desnecessário para a maior parte do thséculo XIX. Somente na virada do thséculo XX, a existência de membranas tornou-se uma suposição conveniente para o estudo da maioria dos processos celulares. A questão não foi resolvida até que as descrições moleculares se tornaram mais precisas em meados do ^{século} XX.

As paredes celulares no momento da proposta da teoria celular

A construção do conceito de célula foi um processo complexo que abrangeu o trabalho de um grande número de naturalistas do século XVII th aos séculos XIX th [11](#)[11][12](#). Como não é minha intenção discutir a história da Teoria Celular, só tratarei com os autores cujo trabalho foi particularmente relevante para suas concepções de membranas celulares (ver caixas azuis escuras na Figura [22](#)). Como muitos autores desse período escreveram em alemão, as citações nas seções a seguir incluirão os documentos primários e secundários que eu usei para preparar essa revisão.

Em 1665, Hooke observou um pedaço de cortiça com seu microscópio e viu cavidades que ele comparou aos pentes [13](#)de mel. Ele chamou essas cavidades de “células”. Este nome é revelador porque desde o início sugere a existência de algumas fronteiras que limitam um espaço vazio. No entanto, os limites celulares que Hooke e seus contemporâneos podiam facilmente observar com seus microscópios eram as paredes celulares da planta. Hoje em dia, sabemos que muitas células podem ser cercadas por paredes celulares duras que são diferentes das membranas celulares universais. No entanto, como apenas as paredes celulares podiam ser facilmente observadas naquela

época, os primeiros debates entre os microscopistas se concentraram nessas estruturas por mais de 150 anos.

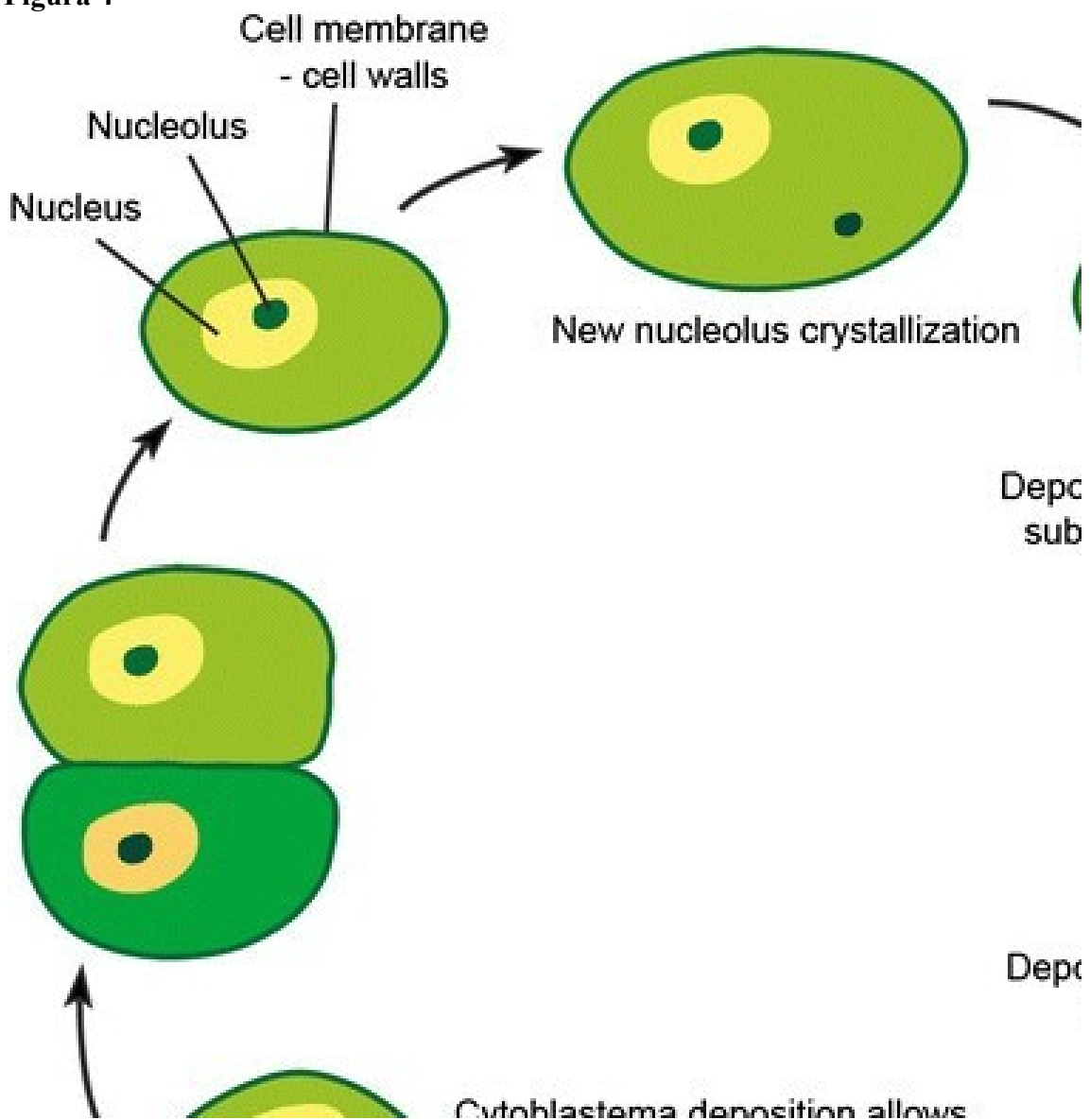
Durante esse período, duas concepções diferentes das observações microscópicas competiram entre si. Por um lado, alguns autores pensaram que as paredes celulares eram estruturas contínuas que atravessavam o organismo vegetal. Embora ele tenha descrito pela primeira vez o parênquima das plantas como uma "massa de bolhas", [14](#)Grew foi mais tarde o primeiro a abraçar a opinião de que as paredes celulares eram compostas de fibras entrelaçadas em uma estrutura comparável a um tecido têxtil [15](#)[15] - incidentalmente, dando origem à introdução do termo "tecido" em biologia [11](#)[11]. Esta linha de pensamento durou até o início do thséculo XIX; seu último proponente foi Mirbel, que assumiu que todo o organismo vegetal era feito de uma estrutura *membranosa* única (note aqui que os termos "membrana" e "parede de célula" foram indistintamente usados naquela época). Do seu ponto de vista, as "células" que foram observadas entre as "membranas" também foram consideradas partes de uma cavidade contínua [16](#)[16]. Para citar um de seus oponentes, as celas de Mirbel eram como "as bolhas na migalha de pão" [17](#)[17]. Por outro lado, muitos autores, o primeiro dos quais era Malpighi, imaginou as células não apenas como o espaço entre as "membranas", mas como estruturas discretas delimitadas pelas paredes celulares [11](#)[11], [18](#)[18]. Esta última hipótese foi finalmente aceita no início do thséculo XIX, quando Treviranus, Moldenhawer e Dutrochet conseguiram separar as células do tecido vegetal usando métodos diferentes [11](#)[11],[17](#)[17],[19](#)[19],[20](#)[20]. A demonstração de Link de que os pigmentos de uma célula não passaram para as células vizinhas, a menos que as paredes celulares fossem quebradas também contradizia a suposição de Mirbel de que as cavidades formavam um compartimento contínuo [11](#)[11],[21](#)[21]. No primeiro quartel do thséculo XIX, as células vegetais eram amplamente reconhecidas como utriculas desconectadas delimitadas por paredes celulares separadas.[22](#) No entanto, a distinção entre paredes celulares e membranas celulares permaneceu impossível.

A descoberta de que as células vegetais poderiam ser separadas dos tecidos vegetais contribuiu para moldar a ideia cada vez mais popular de que todos os organismos eram composto de células, ou seja, a Teoria da Célula. Muitos manuais de biologia creditam Schleiden e Schwann pela formulação desta teoria. Análises históricas mais completas realmente mostram que a ideia de que as células eram estruturas universais antecederam esses autores e a maioria das características que agora reconhecemos como definidoras de células foram descobertas após Schleiden e Schwann [11](#)[11], [12](#)[12]. No entanto, as contribuições de Schleiden e Schwann foram altamente influentes porque foram uma das primeiras a relacionar intrinsecamente a ideia da universalidade das células com a universalidade de sua multiplicação e crescimento. Seu ponto de vista sobre tho desenvolvimento celular merece atenção específica de nós porque impactou a maneira como as pessoas pensavam sobre as membranas celulares para o resto do século XIX.

Em 1837, Schleiden postulou um mecanismo de desenvolvimento comum para todas as células vegetais [23](#)[23],[24](#)[24]. Dois anos mais tarde, em 1839, Schwann enriqueceu e estendeu a hipótese de Schleiden para as células animais, sugerindo assim que havia um mecanismo universal para o desenvolvimento celular.[2526](#) Sua hipótese era a seguinte (Figura [44](#)): Todas as células vivas eram compostas de uma substância amorfa chamada citoblastema da qual as células se originaram. A principal diferença entre suas respectivas hipóteses era que Schleiden pensava que novas células sempre cresciam dentro de outras células, enquanto Schwann reconhecia a possibilidade de que as células

pudessem crescer a partir de qualquer citoblastema – seja interno ou externo. Segundo ambos os autores, o primeiro passo para a formação de uma nova célula teria sido a coagulação de uma parte de um citoblastema preexistente em um nucléolo. O nucléolo teria atuado como um centro de nucleação que incorporaria outras moléculas do citoblastema em um processo semelhante à cristalização mineral. Durante o crescimento, um processo de diferenciação teria permitido a separação do núcleo do resto da célula. As membranas endurecidas ao redor do núcleo e da célula emergiram como resultado do contato entre duas “fases”, ou seja, o núcleo/citoplasma ou citoplasma/ambiente, respectivamente. Embora Schleiden não tenha discutido muito as membranas, Schwann as considerou importantes estruturas responsáveis por separar a célula de seu ambiente e ser o local onde ocorreu a “fermentação” (metabolismo). Ele assumiu que as membranas sempre limitavam as células, mesmo quando eram invisíveis, e sugeriu que a existência de membranas poderia ser inferida a partir do movimento browniano interno dos componentes celulares, que não cruzavam as bordas celulares.

Figura 4



O desenvolvimento das células segundo Schleiden. Este número foi desenhado para a clareza a partir de descrições de Schleiden e Schwann, mas esses autores nunca tentaram fornecer uma representação tão sintética em seu trabalho. O modelo de Schwann era muito semelhante, exceto por sua opinião de que novas células também poderiam cristalizar a partir de citoblastema fora das células anteriores.

[Imagem de tamanho completo](#)

Apesar do fato de que os modelos de Schleiden e Schwann provaram estar errados, eles agiram como catalisadores para promover debates quentes sobre a multiplicação e organização de células que dominaram a histologia para o resto do século. Em relação às membranas celulares, há vários pontos a ter em mente para a próxima seção: Primeiro, embora Schwann lhes tenha atribuído papéis essenciais, sua concepção de membranas celulares como estruturas de interface endurecidas é completamente diferente do nosso conhecimento atual do sujeito. Em segundo lugar, deve-se lembrar que, na época, ainda era impossível fazer a distinção entre as membranas celulares e a parede celular; algumas pessoas tentaram procurar paredes celulares em tecidos animais e fazer comparações entre paredes celulares de plantas e outras estruturas externas animais, mas seus resultados foram confusos [11](#)[11]. Finalmente, muitos de seus contemporâneos questionaram a suposição de que, mesmo quando invisíveis, as membranas sempre ligavam as células: isso parecia ser teoricamente desnecessário e difícil de provar. Como será desenvolvido na próxima seção, aqueles que – corrigiram – reconheceram a falta de um animal equivalente à parede celular da planta predominantemente assumiram que as membranas não eram uma característica obrigatória de todas as células.

Células sem membranas

A segunda metade do thséculo XIX foi um período de muitos debates e descobertas biológicas fascinantes relacionadas à evolução darwiniana, à fisiologia de animais e plantas e, mesmo na histologia, à descoberta da mitose. Dentro deste contexto, os limites celulares receberam atenção relativamente limitada. No início da década de 1890, as membranas celulares eram frequentemente consideradas estruturas secundárias não essenciais.[27](#)

Embora alguns autores já tivessem pensado nas membranas celulares como estruturas secundárias opcionais [11](#),[28](#)[28], [29](#) parece que o primeiro autor que explicitamente descartou a existência de membranas celulares foi Leydig em 1857 [11](#)[11],[30](#)[30]. Ele baseou sua opinião no fato de que as membranas nem sempre eram observáveis e descreveu a célula simplesmente como uma “substância primitivamente se aproximando de uma esfera em forma e contendo um corpo central chamado de núcleo [núcleo]” [11](#)[11]. Ele reconheceu a existência de membranas como estruturas secundárias resultantes do endurecimento da superfície celular. Posteriormente, estudos sobre amebas reforçaram a opinião de que as paredes celulares não eram características necessárias das células: De Bary, que entendia os limites celulares como uma estrutura sólida como as paredes celulares, observada em *Plasmodium* vários núcleos sem partição em torno de cada uma delas. Ele concluiu que as membranas podem existir ou não dependendo de diferentes tipos de células [12](#)[12],[31](#)[31]. Ele também argumentou razoavelmente que a presença de uma parede celular rígida teria impedido a contração do protoplasma que permitia os movimentos amebóides em seus organismos modelo.

De forma semelhante, Haeckel concordou que as membranas delimitadoras eram facultativas em protistas [12](#)[12],[[32](#)].

Na segunda metade do thséculo XIX, o principal oponente à existência de membranas ao redor das células foi o protistólogo Max Schultze [11](#)[11],[[1227](#)[23],[23],[[33](#)[33][34](#)],[34]. Este autor descreveu as células como pequenos pedaços de protoplasma contrátil que se mantinham juntos por causa de sua incapacidade de misturar com água. Na sua opinião, as membranas eram apenas estruturas secundárias resultantes do endurecimento da superfície celular. Sua aparência era um artefato que marcava o início da degeneração dos protistas. Quando as membranas existiam, elas impediam a divisão celular e os movimentos protoplasmáticos internos, resultando em perda de atividade celular. Beale, portanto, viu o aparecimento de membranas como uma marca de degeneração natural que diferenciou o protoplasma ativo, vivo do material inativo e morto produzido pela célula [[35](#)]. Em 1890, Turner publicou uma revisão que explorou a história e as atualizações para a Teoria das Células.[27](#) Ele descreveu as membranas plasmáticas como estruturas secundárias e estendeu essa ideia às suas contrapartes intracelulares com base no fato de que a membrana nuclear desapareceu durante a mitose. Neste contexto, não é surpreendente que Schultze e mais tarde Sachs tenham defendido o absurdo do próprio termo "célula" [11](#)[11],[[36](#)],[[37](#)]. O termo original cunhado por Hooke enfatizou a existência das paredes celulares, enquanto esses autores reconheceram o protoplasma (o protoplasto, de acordo com Hanstein, [11](#)[11],[[38](#)]) como a sede das atividades biológicas.

Curiosamente, embora muitos autores deste período tenham dado como certa a ausência de membranas celulares, esta foi também a era dos primeiros estudos osmóticos. As especulações sobre as bordas celulares permaneceram intactas porque as observações histológicas não conseguiram encontrar uma diferença entre as membranas celulares específicas e a borda simples do protoplasma.

Estudos osmóticos iniciais e os limites celulares

Os estudos com osmose (caixas laranja na Figura [22](#)) tiveram uma relação ambígua com a compreensão precoce das membranas celulares. Desde os primeiros estudos, o movimento da água através de membranas semipermeáveis foi explicitamente relacionado com as mudanças de volume da célula. A osmose dificilmente pode ser compreendida sem o conceito de semipermeabilidade da membrana e, como resultado, osmotic estudos têm sido relevantes para reconhecer teoricamente as membranas celulares como barreiras seletivas. No entanto, os primeiros estudos usando membranas artificiais foram difíceis de comparar com a complexidade das membranas celulares naturais e a analogia entre os dois tipos de membranas permaneceu obscura por um longo tempo.

Em 1748, enquanto tentava preservar um pouco de álcool da exposição ao ar, Nollet imergiu um frasco cheio de etanol em um recipiente de água e o cobriu com uma membrana da bexiga. Depois de algumas horas, a membrana da bexiga inchou significativamente. Confrontado com esta observação, ele realizou o experimento oposto. Ele colocou a água no frasco coberto com a membrana da bexiga e o álcool no recipiente exterior; a membrana afundou. Ele concluiu que a membrana da bexiga era permeável à água, mas não ao etanol [[39](#)]. Alguns anos depois, Hewson relatou o que poderia ser considerado como as primeiras observações osmóticas em células vivas: ele

estudou a forma dos eritrócitos e notou que essas células encolheram ou incharam dependendo da concentração de sal do meio [40]. Embora inspiradores, esses primeiros relatórios passaram despercebidos no início.

A importância da osmose não foi inteiramente reconhecida até o trabalho de Dutrochet entre 1826 e 1838. Dutrochet redescobriu os fenômenos da osmose e realizou muitos experimentos usando diferentes soluções e membranas que estabeleceram tanto a descrição física dos fenômenos quanto sua relevância fisiológica. Desde seus primeiros trabalhos usando membranas animais, ele concluiu que a água se movia do compartimento onde as soluções eram menos densas, ácidas ou carregadas positivamente até o compartimento, onde as substâncias eram mais densas, alcalinas ou carregadas negativamente.⁴¹ Ele foi influenciado por trabalhos anteriores de Porret, que mostrou que uma membrana animal impermeável poderia se tornar permeável quando uma corrente elétrica fosse aplicada.⁴² Dutrochet repetiu os experimentos de Porret e primeiro pensou que o movimento da água através da membrana poderia estar de alguma forma relacionado à eletricidade [41]. Seus contemporâneos também sugeriram que as diferenças de capilaridade ou viscosidade entre as soluções podem explicar os fenômenos observados⁴³,^[44]. No entanto, uma análise mais sistemática permitiu que Dutrochet descartasse todas essas hipóteses, incluindo as suas [45]. Ele concluiu que a razão para o movimento da água era a heterogeneidade dos líquidos nos dois compartimentos, mas a natureza subjacente da heterogeneidade permaneceu desconhecida para ele.⁴⁴ Pode ser surpreendente notar o quão difícil foi para Dutrochet explicar os fenômenos que ele observou, mas isso tem que ser considerado em seu contexto: a difusão foi qualitativamente descrita por Graham na década de 1830 e Fick não forneceu suas equações quantitativas para difusão até 1855,⁴⁶^[47].

Desde o início de seus experimentos, Dutrochet estendeu suas observações sobre a osmose à fisiologia [41]. Ele explicou a turgescência vegetal pelo fato de que as células vegetais usavam osmose para acumular água. Seu trabalho sobre osmose certamente influenciou sua opinião de que as células estavam cercadas por membranas celulares essenciais, embora sua maneira de descrevê-las pareça estranha para nós hoje. Ele sugeriu que as fronteiras celulares agiam como “perturbais químicos”, que agora descreveríamos como semipermeáveis, embora ele não usasse esse termo. A coitana-membrana química teria sido capaz de alterar a composição do meio celular, resultando na “secreção” (metabolismo) de substâncias para o exterior e o interior da célula [41].

Estudos osmóticos e membranas artificiais posteriores

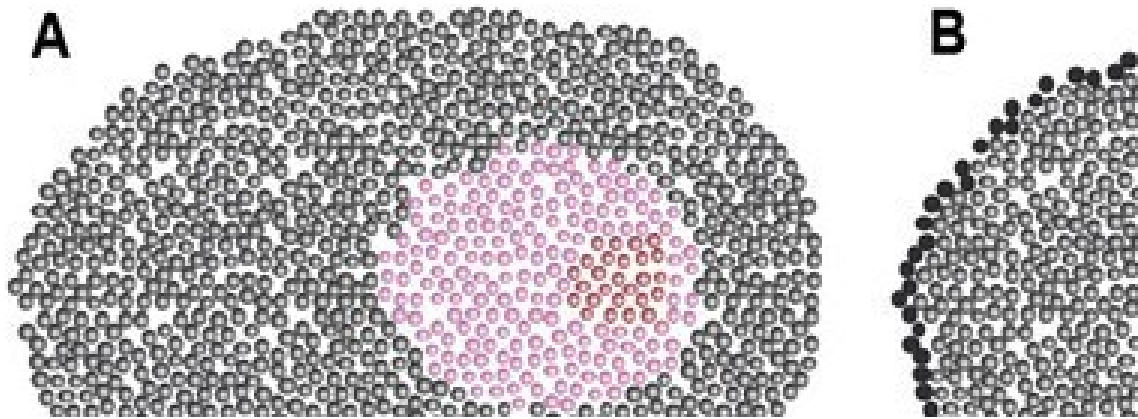
Em 1844, Von Mohl tratou os tecidos vegetais com álcool e diferentes ácidos e descreveu o desprendimento do protoplasma do interior das paredes celulares. Ele nomeou a vesícula encolhida que se separava das paredes celulares da "utricula primordial" ¹¹[11],^[48]-^[50]. Além deste método químico, na década de 1850, N'geli e outros autores colocam células vegetais em meios hipertônicos e observaram a contração de uma vesícula dentro das paredes celulares ¹¹[11], ¹²[12],^[5154] Ao longo do tempo, tais estudos osmóticos tornaram-se mais quantitativos e, em 1884, De Vries e Hamburger, entre outros autores, foram capazes de usar modelos de células vegetais e animais para mostrar que, com exceção dos eletrólitos, a maioria das soluções aplicava pressões osmóticas iguais em concentrações iguais em concentrações iguais.⁵⁵⁵⁶

Embora hoje esses resultados possam parecer bastante simples de analisar, no momento em que não foram decisivos porque as membranas permaneceram invisíveis. Não está claro se Von Mohl pensou que a utricula primordial estava cercada por um envelope ou era uma porção nua de protoplasma [11](#)[11]. Nögelí acreditava que a membrana semipermeável resultava do endurecimento da camada externa de protoplasma em contato com a água, apoiando assim a ideia de que as membranas não eram diferentes do resto da célula [54](#). Jacobs argumentou que, mesmo após seus estudos osmóticos detalhados, de Vries e Hamburger não assumiam que as células eram necessariamente delimitadas por membranas [57](#); de Vries estava realmente ciente do fato de que os fenômenos osmóticos ele estava medindo as mudanças de volume no maciço vacúolo da planta, desviando assim a atenção das membranas [11](#)[11],[[55](#)]. Finalmente, os oponentes das membranas celulares foram confortados pelos experimentos de Nögelí na ideia de que o protoplasma nu era o componente ativo da célula, enquanto a parede celular rígida era um elemento secundário não essencial que poderia até ser removido da célula [27](#)[27].

Dois conceitos são importantes aqui para entender como a célula foi retratada no final do thséculo XIX e início thdo século XX: o coloidídeo e as membranas de precipitação (caixas vermelhas na Figura [22](#)). Em 1861, Graham separou as moléculas solúveis em água em dois tipos de acordo com sua capacidade de atravessar um papel de pergaminho: sais e açúcares inorgânicos cruzaram facilmente a membrana e foram chamados de cristalóides, enquanto compostos semelhantes à gelatina eram incapazes de fazê-lo e foram nomeados coloides [58](#). Os biólogos rapidamente adotaram o termo “colóide” para se referir à estrutura do protoplasma, provavelmente porque parecia mais preciso ao descrever o interior viscoso da célula. A questão em aberto então era determinar se a superfície da célula era composta da mesma substância que o resto do protoplasma. Uma possível resposta a essa pergunta foi fornecida por estudos sobre membranas de precipitação.

As membranas de precipitação foram as primeiras membranas artificiais a serem sintetizadas. Eles foram desenvolvidos pela primeira vez pelo Traube em 1867 e assim chamados porque foram obtidos pela precipitação de moléculas na interface entre uma solução de ferrocianeto de potássio e outra de sulfato de cobre [59](#)],[[60](#)]. Essas membranas eram permeáveis à água, mas não a outras moléculas, tornando-se ferramentas importantes para estudos osmóticos. Por exemplo, Pfeffer foi capaz de produzir membranas de precipitação mais resistentes em 1877 e realizou vários experimentos que estabeleceram a correlação entre a pressão osmótica e a concentração da solução e temperatura.[6061](#) As membranas de precipitação foram altamente influentes no debate sobre a existência de membranas celulares porque a maioria dos autores, incluindo aqueles que trabalham na osmose, assimilou as membranas celulares a uma membrana de precipitação. De acordo com esse ponto de vista, o colóide protoplasmático precipitou-se quando estava em contato com o meio aquoso, mas isso não exigia que a membrana fosse diferente do resto do protoplasma (Figura [5](#)).

Figura 5



XIXthXIX o século XIX dúvidas sobre a existência de membranas. **A.** **A.** (em inglês). Nesta visão, a célula é desprovida de qualquer membrana e todas as propriedades da célula são definidas pela atividade do coloide protoplasmático. **B.** (em inglês). A célula é cercada por uma camada externa (membrana) da qual a natureza é distinta para o resto do protoplasma. No entanto, nesta visão, o interior da célula permanece um coloide.

[Imagem de tamanho completo](#)

Para resumir, apesar dos importantes desenvolvimentos na osmose que estavam ocorrendo durante a segunda metade do thséculo XIX e da necessidade intrínseca de membranas para explicar esse fenômeno, seria enganoso pensar que as membranas celulares eram consideradas estruturas celulares obrigatórias na época. Mesmo aqueles que reconheceram o fato de que a osmose requer membranas semipermeáveis ocorrem, viciadas bordas celulares como membranas de precipitação na superfície de um coloide protoplasmático – um ponto de vista irreconciliável com nossa compreensão atual das células.

Hipóteses sem membrana tardia

Como foi demonstrado até agora, durante a maior parte do thséculo XIX, as membranas celulares atraíram atenção limitada e a opinião dominante foi que as membranas celulares (muitas vezes confundidas com paredes celulares) eram estruturas secundárias que resultaram do contato entre o coloide protoplasmático e o ambiente. Esta visão das coisas mudou na virada do thséculo XX, mas marginalmente permaneceu até o final daquele século. A este respeito, o trabalho de Fischer em 1921 é notável porque ele questionou o conceito de membranas celulares em um momento em que sua existência era geralmente dada como certa, mas a evidência direta permaneceu escassa. Seus argumentos, que podem ser considerados como o culminar do thponto de vista do século XIX sobre as membranas, foram os seguintes [62]: 1) As membranas celulares eram invisíveis usando microscopia óptica; mesmo quando a borda da célula era visível, não provava a existência de membranas com características diferentes do resto do protoplasma; 2) Quando as células eram imersas em um meio hipertônico, elas diminuíram menos do que seria esperado de osmoéticos. desmenti como peneiras ou camadas de solvente apolar; 4) Fischer alegou que fragmentos celulares se comportavam de forma semelhante com solutos do que células inteiras, embora ele não fornecesse um relato preciso dos experimentos que o fizeram dizer isso; e 5) Uma vez que ele assumiu que o interior da célula era um colóide, ele argumentou que os modelos

de membrana celular ainda tinham que explicar como as moléculas se moviam dentro do coloide (a célula) uma vez que cruzavam a membrana. Como resultado de todas essas críticas, ele concluiu que a camada externa do protoplasma só poderia ser concebida como um “filme de tensão superficial” composto pelos mesmos compostos do protoplasma e sem qualquer valor osmótico.

As opiniões de Fischer certamente não eram dominantes na época, mas a hipótese coloide não morreu até que o progresso na enzimologia e na biologia molecular substituísse a descrição homogênea do protoplasma, semelhante à gelatina, estudando compostos discretos da vida. A existência de membranas foi vindicada até a década de 1950 e há até alguns autores que ainda a questionam [4](#)[4].[63](#)

O nascimento das membranas celulares

A existência de membranas celulares não se tornou popular até a virada do thséculo XX. Nesta seção apresentarei as diferentes evidências que levaram ao reconhecimento geral da existência de membranas celulares em seu sentido moderno.

A permeabilidade das moléculas de acordo com sua polaridade

Na década de 1890, duas visões confrontantes competiram uma à outra para explicar como as membranas semipermeáveis operavam: o Traube havia sugerido que as membranas de precipitação tinham pequenos poros que lhes permitiam se comportar como peneiras, enquanto Nernst introduziu a ideia de que as substâncias permeantes eram aquelas que poderiam se dissolver nas membranas [\[59\]](#),[\[6465\]](#). De 1895 a 1899, Overton realizou uma série de experimentos em que ele imergiu células em soluções de mais de 500 substâncias diferentes na mesma concentração, a fim [6668](#)de estudar sua permeabilidade com diferentes moléculas. Ele notou que as soluções de moléculas solúveis em éter (apolar) não resultaram no encolhimento das células, ao contrário das soluções de substâncias solúveis em água (polares). Ele concluiu que moléculas apolares entravam nas células com menos dificuldade do que as substâncias polares, e ele mostrou que isso era independente de seu tamanho molecular. Como a solubilidade, não o tamanho molecular, foi o melhor preditor da entrada de substâncias na célula, Overton favoreceu a hipótese de Nernst para permeabilidade à membrana [\[68\]](#). Com base na observação de que nem todas as moléculas poderiam entrar nas células com a mesma facilidade, mas também [11](#)cientes de que a parede celular da celulose não poderia estar envolvida no fenômeno, ele sugeriu que havia uma membrana celular distinta da parede celular da celulose [\[11\]](#),[\[66\]](#) e que essas membranas celulares eram compostas de componentes solúveis em éter [\[67\]](#),[\[68\]](#). Procurando candidatos polares específicos que pudessem compor as membranas, ele descartou os triglicerídeos porque estariam sujeitos à saponificação nas condições normais de vida das células. Ele sugeriu que o colesterol e os fosfolipídios poderiam ser os principais componentes das membranas celulares, embora pouco fosse conhecido na época sobre as funções celulares dessas moléculas. Ele também reconheceu a dificuldade que a teoria da solubilidade da membrana pode introduzir na explicação do movimento da água e outras substâncias hidrofílicas através dos limites celulares. Ele tentou resolver esse paradoxo lembrando que, apesar de sua natureza hidrofóbica, ésteres de colesterol e misturas de colesterol-palmitina eram conhecidos por absorver grandes volumes de água [\[68\]](#). Ele também sugeriu que algum tipo de propriedade ativa do protoplasma poderia permitir o transporte ativo de moléculas para a célula [66](#),[\[69\]](#). Observações semelhantes e menos

conhecidas também foram relatadas em bactérias e analisadas de forma semelhante [70],[71]. No entanto, Overton permaneceu a figura autoritária para a qual a maioria das futuras obras de membrana celular se referiria (caixas verdes 2escuras na Figura 2).

A permeabilidade aos corantes

Em 1855, Négeli já havia feito algumas observações interessantes sobre a permeabilidade dos corantes na célula vegetal[52],[54]. Primeiro, ele notou que quando os vacúolos vegetais eram preenchidos com uma solução pigmentada, as mudanças osmóticas poderiam modificar o volume do vacúolo, mas o pigmento não vazava para fora do vacúolo, a menos que fosse danificado artificialmente. Ele também mostrou que quando as células vegetais estavam imersas em soluções coloridas hipertônicas, o protoplasma encolheu e as soluções coloridas puderam ser observadas no espaço entre o protoplasma e a parede celular, mas os pigmentos não entraram no protoplasma. Como resultado de ambas as observações, ele concluiu que os limites do vacúolo e a superfície protoplasmática eram barreiras à penetração[52],[54]. Ainda assim, como vimos anteriormente, Négeli não achava que a célula fosse delimitada por uma membrana diferenciada, então ele assumiu que a resistência à pigmentação era uma característica geral de todo o protoplasma, e não a consequência da atividade de uma parte específica da célula. Overton reviveu o interesse por corantes e, de acordo com seu trabalho anterior, confirmou visualmente que os corantes lipossolúveis entraram nas células mais facilmente do que os corantes solúveis em água [11][72]. No entanto, essas observações não provaram definitivamente que as membranas celulares eram quimicamente diferentes do resto do protoplasma. Não foi até 1922 que a melhoria das técnicas de microinjeção forneceu uma resposta crucial para esta questão. Chambers usou esta técnica para aplicar uma solução citolítico-sossolécida (ou seja, capaz de digerir o citoplasma) em diferentes partes da célula. Ele mostrou que poderia aplicar a substância citolítica hidrofílica na superfície dos ovos das estrelas-do-mar sem danificá-los. Em seguida, ele injetou uma pequena quantidade no interior da célula e observou a citólise do protoplasma. Quando a injeção foi feita perto das bordas celulares, a citólise se espalhou no protoplasma, mas não impactou a membrana até que o resto da célula tenha sido maciçamente danificado [73]. Esta foi a primeira evidência inevitável de que a natureza da superfície celular era diferente do resto do protoplasma, apoiando a existência da membrana celular.

A eletrofisiologia das células excitáveis

A eletrofisiologia é um domínio em si, então aqui vou apenas resumir brevemente as principais contribuições indiretas para o campo das membranas celulares na virada do thséculo XX (caixas roxas na Figura 22). Há dois componentes nesta história. O primeiro é o debate eletrofisiológico primordial encarnado na oposição entre du Bois-Reymond e Hermann [74]: Em 1848, o primeiro relatou uma corrente elétrica e potencial de ação nos músculos e nervos e tentou explicá-los pelas diferenças de carga preexistentes entre o interior e o exterior dos tecidos [74]; [75] Em 1867, o segundo assumiu que as correntes medidas por du Bois-Rey[74],[76]. O segundo elemento desta história é o campo da eletroquímica, que estava emergindo muito rápido graças ao desenvolvimento de modelos matemáticos mais precisos. Tudo começou quando de Vries atraiu a atenção de Von't Hoff para o problema da pressão osmótica. Von't Hoff usou pela primeira vez as medidas osmóticas de Pfeffer, De Vries, Hamburger, Donders e Raoult para sugerir a equivalência teórica e experimental entre as leis dos gases ideais e aqueles que governaram o comportamento de soluções diluídas,[7878]. A

principal exceção que não parecia caber na hipótese de Von't Hoff eram eletrólitos. Arrhenius contatou Von't Hoff em uma comunicação pessoal e colocou-o no caminho para explicar as anomalias observadas com base na hipótese da dissociação. Eventualmente, Nernst, que estava estudando a relação entre eletricidade e movimentos de eletrólitos, desenvolveu equações de Von't Hoff para o cálculo do potencial elétrico e da força eletromotriz em células galvânicas [79](#),[\[80\]](#)

Essas duas linhas de pesquisa se reuniram através do trabalho de Bernstein em 1902. Bernstein usou um modelo fisiológico para corroborar algumas das previsões eletroquímicas feitas por Nernst. Em particular, ele mostrou que as mudanças de temperatura impactaram as forças eletromotrizes nos músculos de acordo com as previsões de Nernst [81](#),[\[82\]](#). A reconciliação da eletrofisiologia com a eletroquímica permitiu que Bernstein formulasse a “teoria membrana dos potenciais elétricos”. A teoria da membrana de Bernstein postulou que (1) os nervos consistiam de um eletrólito condutor limitado por membranas finas ameaçadas de íons; (2) no estado de repouso, a membrana manteve um potencial elétrico com cargas negativas internas e cargas externas positivas; e (3) no período de atividade, a permeabilidade de potássio aumentou e o potencial elétrico conseqüentemente caiu [\[81\]](#),[\[82\]](#).

Na década de 1910, Hober realizou uma série de experimentos que corroboraram a teoria de Bernstein e coincidentemente forneceram evidências suplementares em favor da existência de membranas celulares. Héber mostrou que as condutividades dos eritrócitos musculares ou compactados foram maiores em altas frequências elétricas do que em baixas frequências. Ele sugeriu que as membranas eram impermeáveis em baixas frequências elétricas, mas se tornaram menos resistentes em altas frequências porque as próprias células foram interrompidas. Para testar essa hipótese, H-ber mediu a condutividade interna das células. Os valores que ele obteve não foram compatíveis com a fixação de eletrólitos ao coloide protoplasmático, mas eles apoiaram sua solução no meio interno. O corolário desses resultados foi que a única maneira de evitar que os eletrólitos se difundissem da célula era apresentar um limite impermeável com propriedades diferentes do resto do protoplasma. [8386](#)

A existência de membranas celulares

Em suma, no início do thséculo XX, a presença de membranas estava se tornando amplamente aceita e foi apoiada por três linhas de evidência: os estudos de permeabilidade de Overton, os experimentos de microinjeção de Chamber e as medidas elétricas de Héber. No entanto, deve-se notar que para alguns organismos, especialmente bactérias, este debate não foi definitivamente fechado até várias décadas mais tarde, quando as membranas celulares puderam ser observadas diretamente usando o microscópio eletrônico [\[87\]](#)-[\[89\]](#).

As primeiras estruturas de membranas

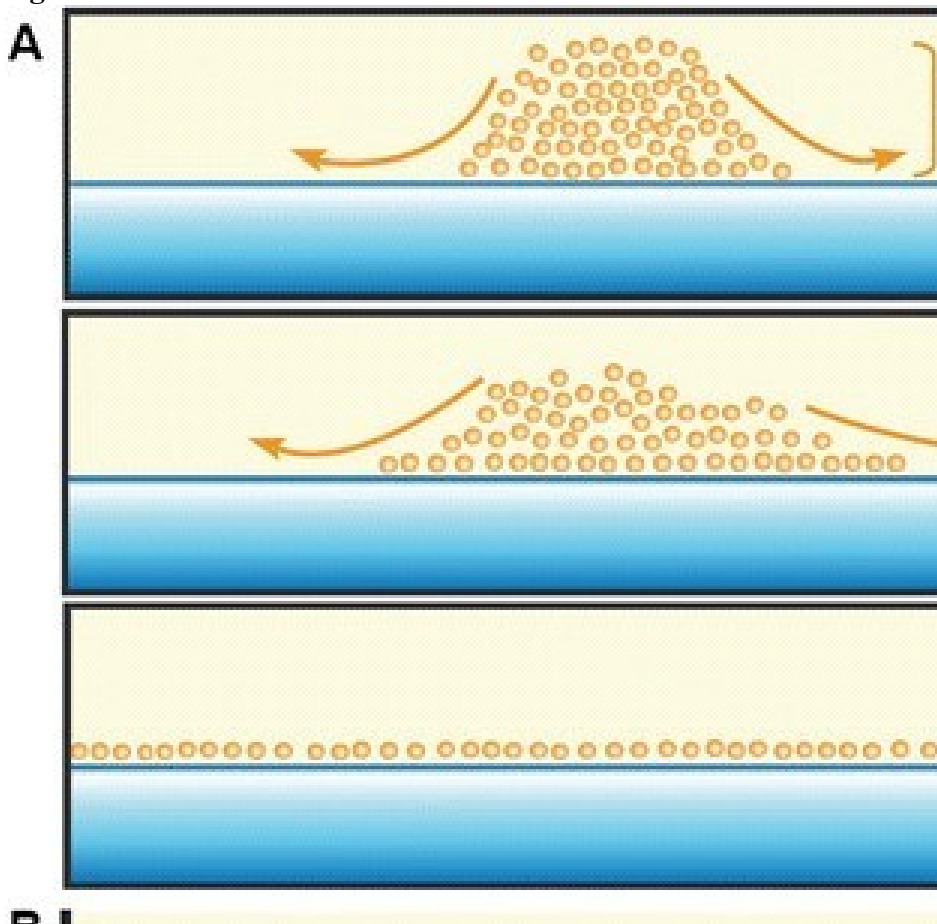
Na seção anterior, mostrei que muitos autores do thséculo XIX pensavam que as membranas não eram partes essenciais das células e mesmo aqueles que reconheciam sua importância não concebiam as membranas como hoje. Na virada do thséculo XX, as membranas celulares tornaram-se uma suposição conveniente apoiada por alguns experimentos diretos. As próximas décadas testemunhariam um interesse crescente em descrever a estrutura da membrana (caixas verdes escuras na Figura [33](#)).

Gorter e Grendel: um avanço relativo

No início do thséculo XX, parecia claro que, se as membranas celulares existissem, elas provavelmente seriam pelo menos parcialmente baseadas em lipídios. A opinião de que a superfície celular poderia ser coberta por uma fina camada lipídica remonta à década de 1880^{65, 90}mas não foi popularizada até as publicações de Overton em 1895-1899 (ver seção anterior). A estrutura molecular das membranas permaneceu inexplorada até o grande avanço feito por Gorter e Grendel em 1925.

O gênio deste artigo foi comparar a superfície que os lipídios celulares foram capazes de ocupar com a superfície total das células. Gorter e Grendel extraíram os lipídios de uma amostra de eritrócitos; uma vez que essas células eram conhecidas por não terem membranas internas, eles assumiram que todos os lipídios deveriam vir dos envelopes celulares. Medir a propagação de lipídios na água foi feito usando o mínimo de um Langmuir (Figura 6). Este dispositivo foi desenvolvido pela primeira vez por Pockels como uma forma de medir com precisão a superfície coberta por monocamadas lipídicas na interface entre água e ar⁹¹, mas foi nomeado após a versão de Langmuir mais de 25 anos depois [92]. Quando Gorter e Grendel compararam a superfície coberta pelos lipídios com a soma estimada das superfícies celulares, encontraram uma proporção de 2:1 (Figura 7). Como resultado, eles concluíram que as células estavam cercadas por uma membrana lipídica duas moléculas grossas – uma bicamada lipídica – com os componentes hidrofóbicos na parte interna da membrana e os componentes hidrofílicos na parte externa [93].

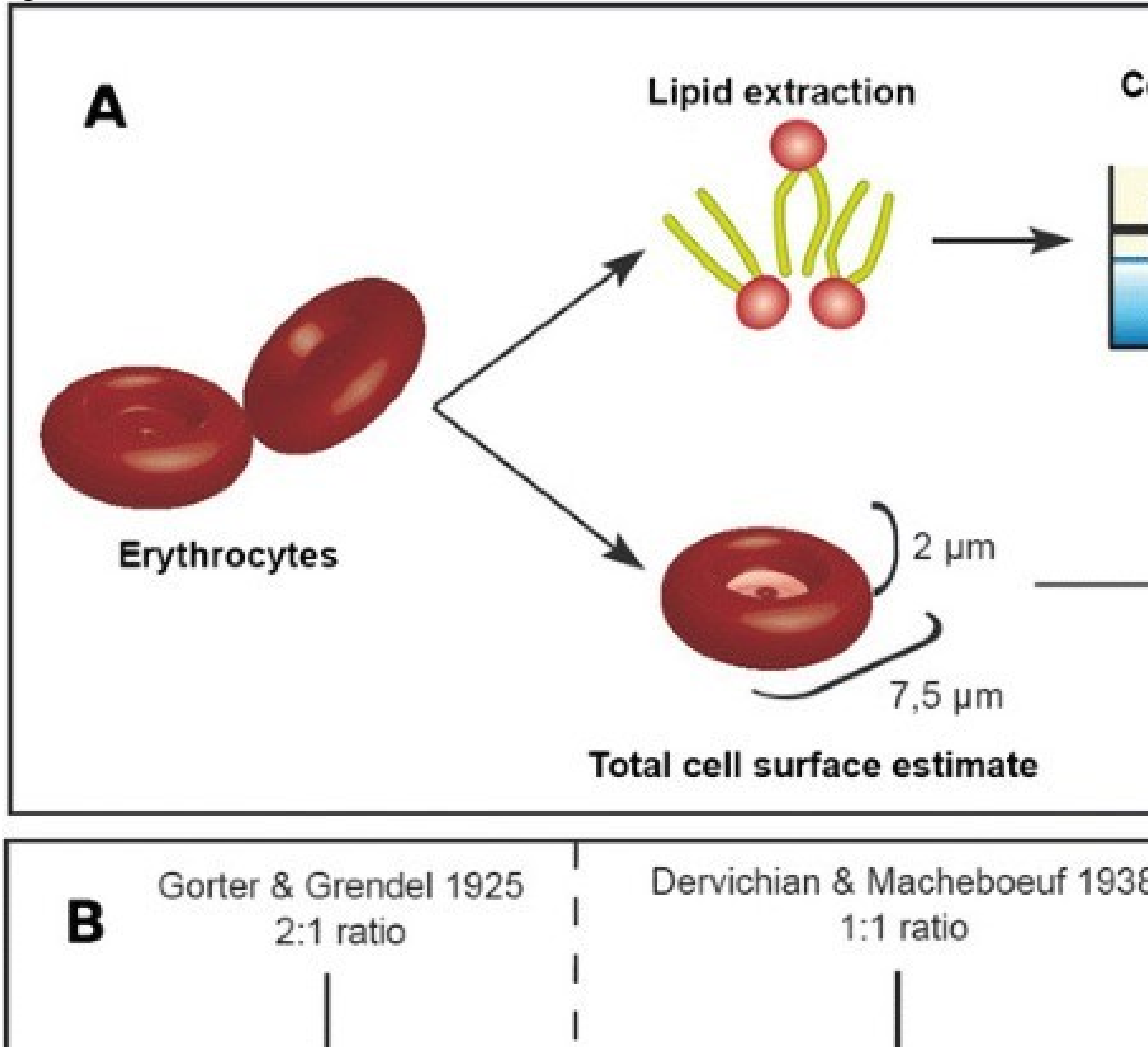
Figura 6



O óleo nas interfaces ar/água. **A.** A. (emo) As moléculas de óleo se espalham espontaneamente na interface ar/água até formar uma camada de uma molécula de espessura. **B.** (em (em) A calha de Langmuir permite medir com precisão a superfície que essas monocamadas podem espalhar dependendo da pressão aplicada.

[Imagem de tamanho completo](#)

Figura 7



Medição de superfície de monocamadas lipídicas de membrana como forma de determinar a estrutura da membrana. **A.** A. (emo) Resumo do método, que consiste na comparação entre a superfície ocupada por lipídios extraídos das membranas e a superfície estimada das células **B.** Resultados e interpretações diferentes.

[Imagem de tamanho completo](#)

Este estudo tem sido comumente citado como o argumento mais conclusivo em favor da natureza lipídica da bicamada das membranas celulares. Apesar da elegância deste trabalho, é importante equilibrar sua contribuição para o campo, pois está sujeito a críticas tanto de base técnica quanto teórica. Em primeiro lugar, a técnica de extração empregada não poderia isolar a totalidade dos lipídios eritrócitos das amostras [94]. Além disso, a equação que Gorter e Grendel usaram para estimar a superfície dos eritrócitos também subestimou a área celular [94]. Algumas revisões históricas sobre a descoberta da membrana argumentaram que foi uma sorte que os dois erros se neutralizaram, a fim de dar crédito à hipótese da bicamada lipídica que agora reconhecemos nos modelos atuais de membrana. Mas deve-se lembrar que a hipótese da bicamada lipídica de 1925 não deixou espaço para que qualquer outra coisa além de lipídios fossem localizados no plano da membrana – em contraste com as hipóteses do mosaico passado e atual. Alguns relatórios paralelos até contradiziam os valores de Gorter e Grendel (Figura 7). Dervichian e Macheboeuf realizaram uma análise semelhante e obtiveram uma proporção de 1:1; como resultado, assumiram que a membrana celular era uma monocamada lipídica [95]. Embora este segundo trabalho também tenha tido problemas de extração lipídica, a principal diferença entre os dois estudos foi que Gorter e Grendel mediram a superfície coberta por lipídios na primeira pressão detectada (ou seja, a superfície contínua máxima coberta por uma quantidade de lipídios), enquanto Dervichian e Macheboeuf mediram a superfície imediatamente antes da pressão do colapso (ou seja, a superfície mínima antes do colapso da monocamada). Na década de 1960, uma razão mais precisa para a superfície lipídica na pressão de colapso em relação às estimativas da superfície celular foi calculada como sendo 1,3:1 [94]; os autores deste estudo posterior sugeriram que sua proporção se conformava em soltar bicamadas lipídicas, enquanto a interpretação moderna do modelo de mosaico fluido suporta a ideia de que os lipídios da membrana são bem embalados e o “espaço em excesso” é realmente ocupado por proteínas da membrana.

Além das questões técnicas, vale a pena notar as bases teóricas em que Gorter e Grendel fundaram seu conceito de bicamada lipídica. Alguns anos antes, na década de 1910, alguns trabalhos pioneiros haviam estudado o comportamento de moléculas anfílicas na interface entre água e ar [92],[96],[97]. Por exemplo, em 1917, Langmuir usou a teoria da ligação de valência sugerida por Lewis no ano anterior para explicar a hidrofília molecular com base na “observância secundária”, ou seja, polaridade química [92]. Langmuir apresentou essa hipótese no mesmo artigo em que ele apresentou a calha que, um tanto injustamente, foi nomeado em sua homenagem. Apesar disso, Gorter e Grendel só citaram o artigo de Langmuir de uma forma muito superficial relacionada com o vale [93]. Em vez de raciocinar em termos de hidrofília e hidrofobicidade, eles sugeriram a estrutura bicamada com base em estudos cristalográficos [99] e observações de bolhas de sabão, que estavam apenas distantesmente relacionadas ao seu sujeito [100]. Gorter e Grendel não são realmente culpados porque as interações hidrofóbicas eram muito mal compreendidas na época. Autores subsequentes, como Danielli, discutiram a importância da natureza anfipática dos lipídios e proteínas para explicar suas respectivas hipóteses estruturais, mas desconsideraram a importância das interações hidrofóbicas [101]. Mesmo Langmuir, que estendeu sua explicação das moléculas anfipáticas para monocamadas de proteínas [102], ignorou as interações hidrofóbicas entre proteínas e lipídios [103] quando veio a imaginar a membrana celular.

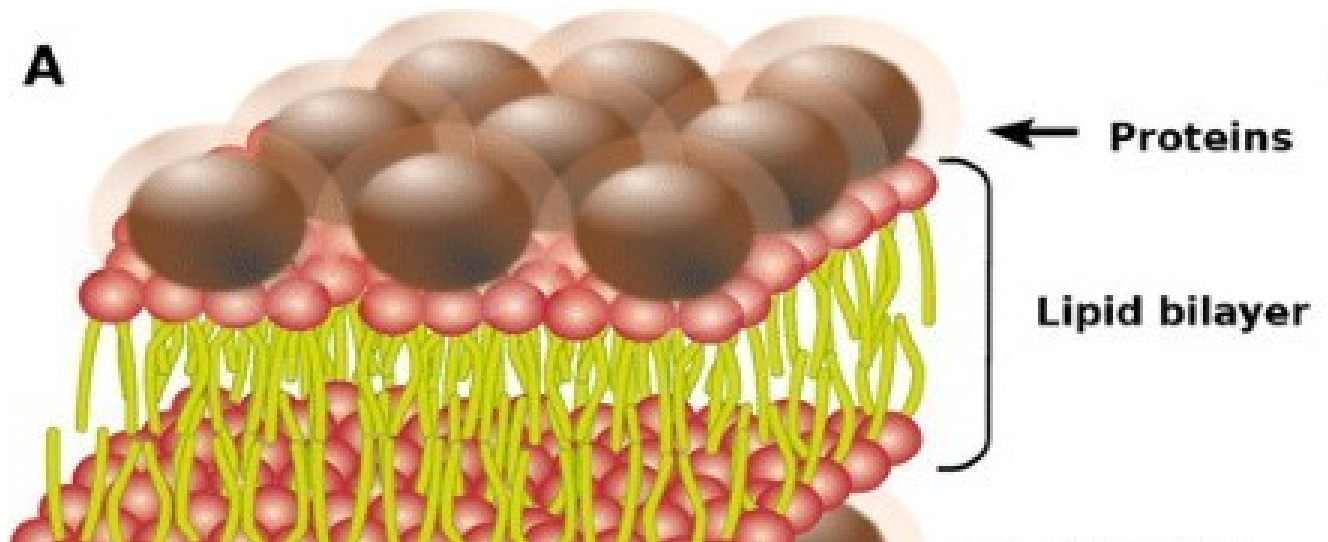
Em resumo, embora o trabalho de Gorter e Grendel tenha sido decisivo para tornar o conceito de bicamada lipídica popular em 1925, sua contribuição real para os modelos atuais de membrana só pode ser apreciada à luz do progresso posterior em estudos de membrana e compreensão da interação hidrofóbica.

Primeiros estudos diretos sobre a estrutura da membrana

A formulação da hipótese da bicamada lipídica abriu a porta para a descrição molecular da estrutura da membrana celular. Na tentativa de confirmar ou refutar o postulado lipídico da bicamada, uma das primeiras linhas de pesquisa a serem exploradas foi a medição da espessura da membrana. A primeira tentativa de estimar a espessura das membranas celulares estava diretamente relacionada à pesquisa de Héber sobre condutividade celular (ver acima). Em 1925, Fricke mediu a capacitância estática por unidade de superfície com uma estimativa da constante dielétrica da membrana celular. Ele extrapolou que a espessura das membranas de eritrócitos e células de levedura estava em uma faixa entre 3,3 e 4 nm [104],[105]. Essa espessura era compatível com uma monocamada lipídica, mas não com uma bicamada, fornecendo suporte aos proponentes da membrana monocamada [95]. A escolha da constante dielétrica utilizada nesses estudos foi questionada, mas os testes subsequentes não puderam refutar a estimativa de Fricke [106]. Independentemente, o leptoscópio foi inventado para medir membranas muito finas, comparando a intensidade da luz refletida de uma amostra com a intensidade de um padrão de membrana de espessura conhecida [107]. Este dispositivo mediu espessuras que dependiam do pH e da presença de proteínas da membrana e variavam de 8,6 a 23,2 nm. Como resultado, os valores inferiores corroboraram a hipótese da bicamada lipídica, enquanto os superiores poderiam suportar a presença de camadas sobrepostas suplementares [108]. A espessura da membrana só se tornaria realmente acessível duas décadas mais tarde, quando a observação de seções de membrana usando microscopia eletrônica estabeleceu o valor agora aceito de 8 nm para as membranas celulares padrão [109].

A década de 1930 foi importante neste campo porque a década introduziu o modelo de estrutura de membrana mais influente até o acordo geral sobre o modelo de mosaico fluido, ou seja, o modelo paucimolecular (Figura 8). A gênese deste modelo baseou-se em estudos de tensão superficial entre óleos e ovos de equinoderme / teleostei [110]-[112]. Como os valores de tensão superficial pareciam ser muito menores do que seria esperado para uma interface óleo-água, assumiu-se que alguma substância era responsável por diminuir as tensões interfaciais na superfície das células [112]. Neste momento, as membranas eram conhecidas por conter quantidades substanciais de proteínas [113, 114] mas pouco tinha sido dito sobre a sua posição nas membranas celulares. Portanto, em 1935, Danielli e Davson sugeriram que a bicamada lipídica estava ensanduichada entre duas camadas finas de proteína [115]. Embora o modelo paucimolecular tenha sido caracterizado pela superposição de camadas de proteínas e lipídios (Figura 8), os autores estavam cientes dos debates contemporâneos sobre permeabilidade à membrana (discutido mais tarde), de modo que admitiram a possibilidade de que algumas proteínas pudessem abranger a membrana.

Figura 8



Hipóteses de estrutura de membranas na década de 1930. A. A. (emo) Modelo Paucimolecular, com uma bicamada lipídica revestida com proteínas em ambos os lados. B. (em (em) Modelo de mosaico de Héber, no qual as membranas se comportavam tanto como solventes quanto peneiras.

[Imagem de tamanho completo](#)

O modelo paucimolecular tornou-se imediatamente popular e dominou os estudos de membrana celular nos 30 anos seguintes. Desde o início, foi confrontado com um equilíbrio de observações críticas e de apoio. Entre as chamadas evidências de apoio, havia alguns estudos de polarização de luz e difração de raios-X. A fim de fornecer insights sobre a estrutura da membrana, esses métodos exigiam estruturas repetidas, de modo que as amostras usadas eram axônios mielinizados. Essas análises mostraram uma alternância de camadas de proteína e lipídios em apoio ao modelo paucimolecular [116]-[118]. Infelizmente, sabemos agora que este material biológico é fisiologicamente muito específico e dificilmente pode ser comparado a uma membrana celular regular.

As hipóteses que desafiaram o modelo paucimolecular serão desenvolvidas abaixo, mas primeiro apresentarei alguns detalhes sobre os estudos acima mencionados sobre a tensão superficial. Os experimentos de tensão superficial que levaram ao modelo paucimolecular utilizaram óleos de triglicerídeos e outros lipídios não miscíveis. Essas substâncias são sensivelmente diferentes da maioria dos componentes naturais da membrana celular anfipática e, portanto, não são adequadas para uma comparação realista com as membranas celulares. Danielli e outros autores mostraram logo após a postulação do modelo paucimolecular que a adição de componentes de membrana celular anfipática como ácidos graxos, colesterol ou fosfolipídios a misturas não miscíveis foi muito eficaz em diminuir a tensão interfacial entre a água e substâncias altamente hidrofóbicas [119],[120]. Como resultado, logo após a sugestão do modelo paucimolecular, o principal argumento que o motivou, ou seja, a exigência de proteínas para diminuir a tensão superficial da célula, foi descartado. No entanto, a hipótese permaneceu popular por mais 30 anos.

Concorrentes Contemporâneos: os modelos de mosaico

Apesar da prevalência do modelo paucimolecular em meados do thséculo X, essa hipótese não foi desprovida de concorrentes. Experimentos diretos em superfícies celulares foram escassos, mas estudos de permeabilidade forneceram um excelente playground para especulações indiretas sobre a estrutura da membrana celular. Estudos de permeação sugerem o que seria chamado de “modelos mosaicos”.

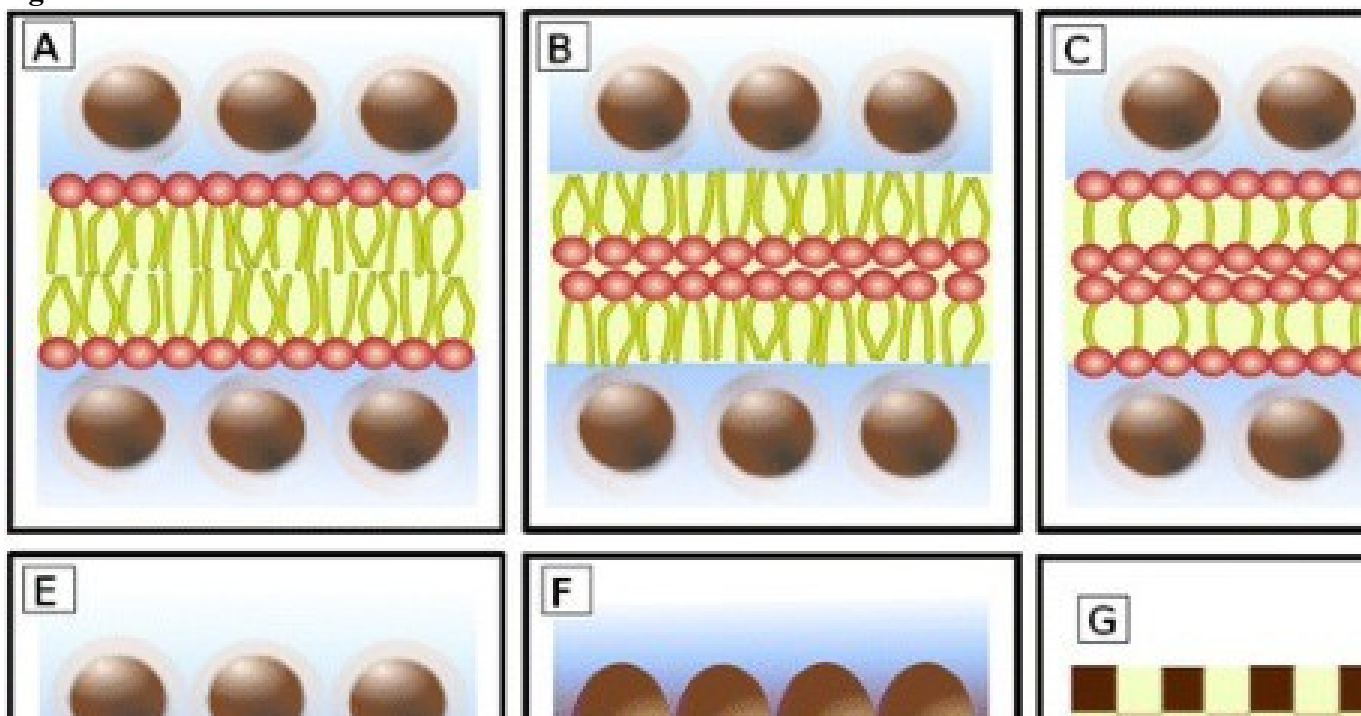
Como foi apontado anteriormente, a hipótese de Overton de que as moléculas apolares facilmente entravam na célula porque podiam ser dissolvidas nas membranas lipídicas celulares automaticamente levantou o problema de como as moléculas polares a acedevam. Em uma tentativa de contornar esta questão, Nathansohn sugeriu em 1904 que a superfície celular poderia ser um mosaico combinando partes semelhantes a gordura com partes protoplasmáticas semelhantes a partes,[\[121121\]](#). No início do thséculo XX, o termo “mosaico” foi reciclado para se referir a membranas com partes heterogêneas [\[124\]](#).[124](#) Na década de 1930, Hober alterou-o para se adequar à ideia de que as membranas eram uma mistura de peneira e partes de solvente (ou seja, lipídicas) [\[125\]](#)-[\[128\]](#). Essas hipóteses de mosaico foram o resultado da combinação das duas formas clássicas de compreensão da permeação através das membranas: membranas de precipitação do Traube e membranas lipídicas Nernst/Overton. No primeiro caso, os tamanhos molecular e dos poros foram previstos para melhor explicar o transporte de moléculas; no segundo, a hidrofobicidade foi o melhor preditor de permeabilidade molecular. O compromisso alcançado descreveu as membranas celulares como camadas lipídicas interrompidas por poros (Figura [8](#), [\[126\]](#)). Uma vez que a permeabilidade de algumas moléculas polares tinha sido mostrada para mudar de acordo com diferentes condições [\[129\]](#), [130](#)também foi sugerido que o diâmetro do poro poderia mudar de acordo com a hidratação do poro, o pH, sua obstrução por alguma molécula particular, o alongamento da membrana, a atividade metabólica e o tipo de célula [\[126\]](#). A maioria das descrições não especificava o tipo de moléculas que poderiam formar esses poros, mas as proteínas estavam entre as melhores candidatas[101](#),[\[131\]](#).

Além das hipóteses do mosaico proponentes, outros autores também questionaram o modelo paucimolecular. Por exemplo, em sua apresentação ao muito influente simpósio de 1940 sobre a permeabilidade das membranas celulares, Parpart e Dziemian relataram a composição química que poderia ser analisada a partir de extratos celulares [\[132\]](#). Embora esses autores não tenham suporte específico aos modelos de mosaico, eles observaram que as lipases em contato com as células modificaram a permeabilidade celular, o que sugeriu que os fosfolipídios de superfície estavam nus em vez de revestidos com proteínas. A discussão que se seguiu à sua palestra é notável porque vários autores expuseram suas visões para a estrutura da proteína da membrana: Ponder imaginou que as proteínas adotavam uma forma de espaguete no topo da membrana, enquanto Davson sugeriu que as proteínas poderiam abranger todo o eritrócitos, não apenas a membrana.

Em 1936, Danielli, que provavelmente era o autor mais influente do campo na época, discutiu um catálogo completo de possíveis estruturas de membrana, além de seu modelo paucimolecular [\[101\]](#). Ele excluiu todos os modelos de membrana que eram muito mais espessos do que 8 nm porque achavam que era a espessura da membrana celular mais plausível. Ele classificou os modelos de membrana em três tipos: membranas lipídicas contínuas, membranas de mosaico e membranas de lipoproteína (Figura [9](#)). No primeiro tipo, ele imaginou todas as combinações possíveis de monocamadas lipídicas e bicamadas revestidas com proteínas. Ele concluiu que uma

bicamada lipídica com as partes polares dos lipídios no exterior seria a estrutura mais estável, pois maximizava o contato das partes lipídicas hidrofílicas com água. Ele assumiu que as proteínas estavam sujeitas às mesmas restrições anfipáticas que os lipídios, mas em suas próprias camadas. Nos modelos de mosaico, ele considerou diferentes distribuições de proteínas e lipídios, mas ele comandou todos eles porque assumiu que as interações laterais entre partes e proteínas hidrofóbicas lipídicas não seriam estáveis. Ele também considerou que se a bicamada lipídica não tivesse sido coberta por proteínas, não teria sido sólida o suficiente para fornecer uma barreira impermeável confiável para resistir à deformação celular. Finalmente, ele não entrou no detalhe das membranas de lipoproteínas porque pouco se sabia sobre esse tipo de moléculas. Em relação à permeabilidade iônica, ele reconheceu as três possibilidades populares de seu tempo: poros, difusão simples e a existência de algum tipo de transportador na membrana [133].

Figura 9



Possíveis arranjos moleculares de membranas biológicas redesenhadas de Danielli em 1936 [101] . A-E. A seção transversal de membranas hipotéticas com lipídios internos e proteínas de revestimento. O F. A seção transversal de uma membrana hipotética composta de subunidades de lipoproteína. G-I. Superfície das membranas de mosaico.

[Imagem de tamanho completo](#)

Em resumo, muitas hipóteses sobre a estrutura da membrana celular estavam em discussão no final da década de 1930. Entre estes, os modelos paucimolecular e mosaico foram certamente os mais icônicos. Os próximos desenvolvimentos seriam altamente influenciados pelas evidências de campos independentes, embora relacionados à membrana.

Insights dos movimentos através da membrana

A caracterização direta da estrutura da membrana não progrediu muito até que novas técnicas permitissem descobertas dramáticas no final dos anos 1950 e 1960. Antes que esses novos métodos se tornassem disponíveis, as membranas celulares atraíram a atenção de autores que estavam estudando papéis de membrana na fisiologia e no metabolismo. Embora essas contribuições nem sempre tenham sido imediatamente reconhecidas pela comunidade que trabalha em estudos de membrana, é importante levá-las em consideração, pois ilustram como os trabalhos desse período (1940-1950) indiretamente alteraram a compreensão da membrana.

A maioria dos estudos apresentados nesta seção está relacionada ao transporte molecular através das membranas e não abordou diretamente a questão da estrutura da membrana. Portanto, não entrarei em detalhes para descobertas nesses campos, mas fornecerei apenas algumas pistas gerais para ilustrar como a pesquisa contextual impactou as concepções de membranas celulares. Para relatos mais completos sobre a história do transporte, excitabilidade e metabolismo da membrana, convido o leitor interessado a se referir às obras perspicazes de Robinson e Kleinzeller e colegas [134],[135].

Distribuições de íons assimétricos

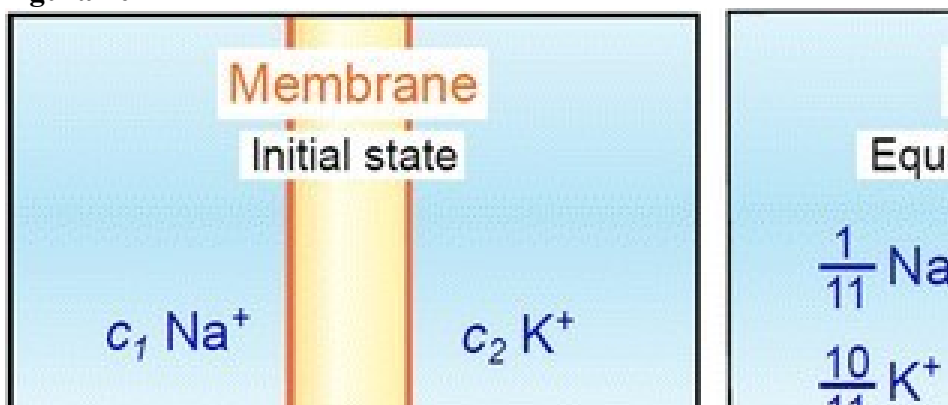
No início do thséculo XX, as concentrações de Na^+ , K^+ e outros íons já eram conhecidos por serem diferentes entre o interior da célula e seu ambiente [136],[137]]. Três hipóteses clássicas competiram para explicar estas observações: (1) alguns íons estavam ligados de forma estável ao colóide celular; (2) as membranas eram totalmente impermeáveis para alguns íons; e (3) as concentrações de íons foram mantidas à custa de um transporte que consome energia [134],[138].

A primeira hipótese está por definição relacionada com a ligação ou dissolução de moléculas no coloide protoplasmático. Como vimos anteriormente, as medidas elétricas realizadas por Hober e Fricke sugeriram que o meio interno da célula poderia ser comparado a uma solução condutora de eletrólitos livres [85],[8686],[104]. As referências às chamadas interações entre íons e o colóide duraram algumas décadas, [140][140], mas o conceito coloide tornou-se progressivamente desatualizado com os desenvolvimentos da enzimologia e da biologia molecular [63]. Como resultado, a assimetria iônica foi debatida principalmente como uma oposição entre as duas outras possibilidades: impermeabilidade à membrana ou consumo de energia (caixas azuis 3 leves na Figura 3).

Em 1910, Donnan mostrou que, desde que uma membrana fosse permeável a alguns íons e impermeável a outras, esperava-se que uma assimetria ¹⁰de distribuição de íons surgisse espontaneamente de acordo com a segunda lei da termodinâmica (Figura , []). Em 1941, Conway e Boyle sugeriram que a impermeabilidade da membrana a proteínas carregadas negativamente e um ou vários eletrólitos poderiam gerar um efeito Donnan complicado que explicaria a assimetria de íons observada [142]. No entanto, o acúmulo simultâneo de evidências - especialmente a partir de estudos de dieta e rotulagem de cátions radioativos - suportou a hipótese de que os íons fisiológicos poderiam efetivamente atravessar as membranas [143] -147 Além disso, o aumento do interesse na conservação do sangue durante a Segunda Guerra Mundial demonstrou que a perda de K^+ de eritrócitos estava relacionada à desaceleração do metabolismo, [148][149]].

Finalmente, os fluxos catiônicos pareciam capazes de restaurar as assimetrias de íons no período de recuperação após a estimulação muscular [150].

Figura 10



O equilíbrio de Donnan. Duas soluções contendo duas concentrações iniciais diferentes de sais diferentes são separadas por uma membrana. Neste caso, a membrana é impermeável a aniões, mas permeável a cátions. Cálculos termodinâmicos e experimentos de Donnan mostraram que, ao contrário do que se poderia pensar inicialmente, os dois cátions não apenas trocam um do outro até que estejam igualmente distribuídos nos dois compartimentos. Em vez disso, quantidades equivalentes de ambos os cátions cruzam a membrana; como suas concentrações iniciais são diferentes, o cátion que inicialmente era menos concentrado proporcionalmente atravessa a membrana mais do que o cátion inicialmente altamente concentrado.

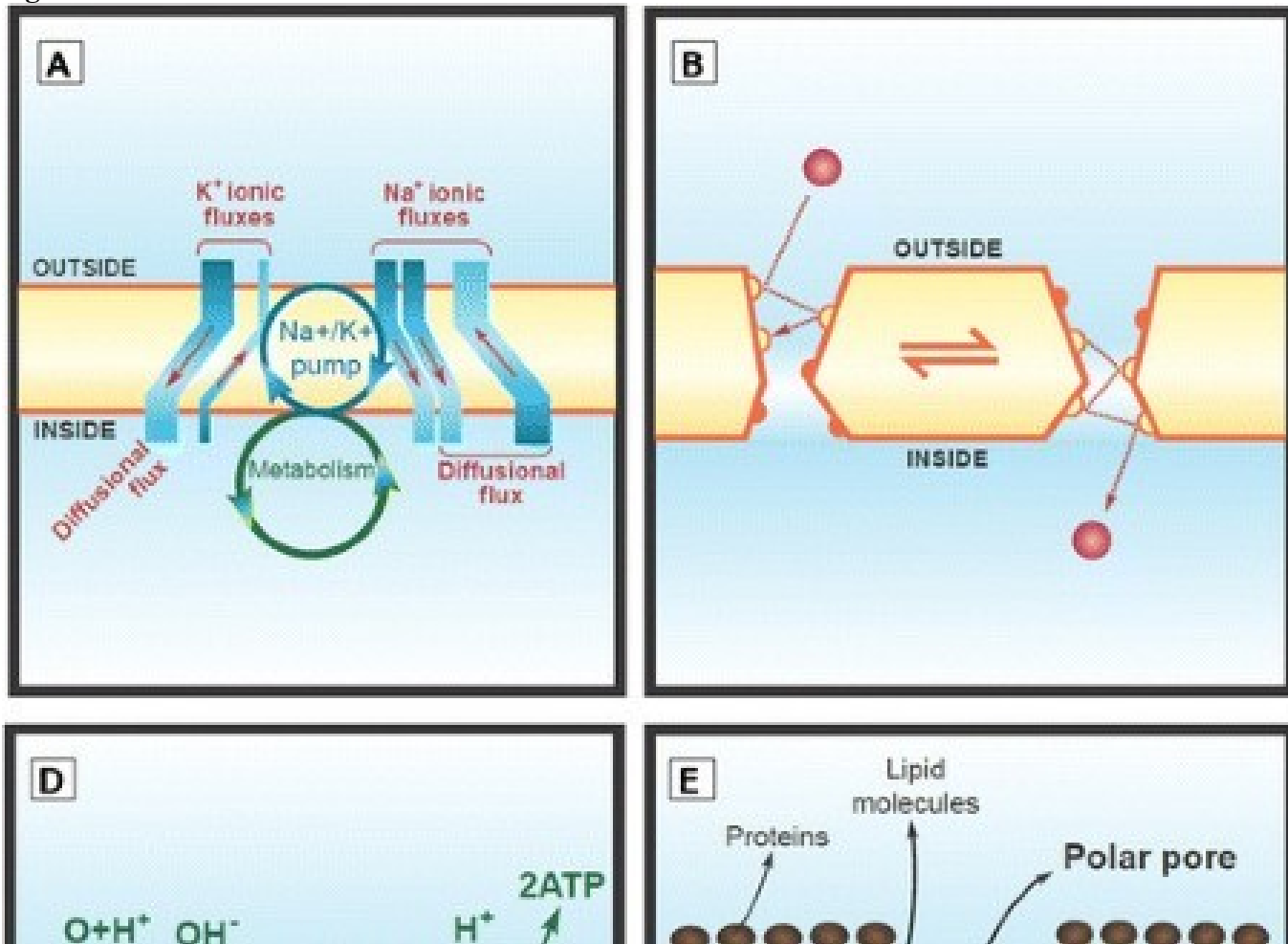
[Imagem de tamanho completo](#)

Esta evidência levou Dean a postular em 1941 que o agente do movimento iônico contra o gradiente poderia resultar da atividade de alguma “bomba” localizada na membrana da fibra muscular [151]. A palestra crooniana de Krogh em 1945 também foi uma opinião influente em favor da hipótese de que as assimetrias Na^+/K^+ foram o resultado do transporte ativo [152]. Conway respondeu a esta hipótese atacando alguns aspectos dos desenhos experimentais e interpretações de seus oponentes (ver [134] para mais detalhes), mas sua objeção mais comentada foi que seus próprios cálculos sobre a energia necessária para extrudar todo o Na^+ do músculo era maior do que a energia disponível real no músculo de repouso [153]. Ele admitiu que alguma pequena quantidade de Na^+ transporte poderia ser possível, mas em proporções irrisórias. No entanto, a hipótese de impermeabilidade foi progressivamente abandonada quando novos trabalhos mediram o fluxo de cátions radioativos com mais precisão e calcularam uma quantidade mais razoável de energia para explicar o transporte cation ativo - a hipótese de transporte ativo tornou-se predominante. [154][157]

A ideia de que as membranas celulares abrigavam importantes transportadores ou transportadores relacionados ao metabolismo não era totalmente nova (caixas rosadas na Figura 33). Já na década de 1930, os íons foram sugeridos para atravessar as membranas graças à interação com alguns componentes da membrana (Figura 11 F, [158]) O transporte de íons também havia sido provisoriamente relacionado ao metabolismo e à respiração [159][161] Em 1947, uma expressão inicial dessa ideia sugeria que a membrana fixava os íons à célula, onde a respiração interna era responsável por trocar

os íons externos por alguns outros íons internos ligados ao colóide da célula através dos chamados “craís de íons” [128]; vale a pena notar que essa hipótese ainda favoreceu a natureza contínua do colóide da célula em vez da difusão no interior da célula (Figura 5). Outra sugestão de transporte foi que a membrana tinha componentes aos quais os íons poderiam estar ligados e que poderiam alterar sua conformação para permitir que os íons cruzassem a membrana [162]. Foi logo sugerido que as proteínas podem ser os agentes deste transporte iônico [163], embora esta opção não tenha sido imediatamente aceita [164].

Figura 11



Redesenha de alguns exemplos de transporte através das membranas nas décadas de 1950 e 1960. A. A. (em inglês). Eccles retrata em 1963 o acoplamento entre uma bomba de íons acionada por metabolismo e vários canais diferentes [165]. B. (em inglês). Burgen sugere em 1957 que as moléculas atravessam os poros graças a interações específicas e dinâmicas com elas [166]. C. (em inglês). Mitchell descreve em 1957 um transportador de proteína semelhante enzimático embutido na membrana [167]. D. A hipótese quimiosmótica de Mitchell em 1961 é baseada na existência de estruturas embutidas nas membranas biológicas [168]. E. Desde cedo, Danielli e colaboradores consideraram a possibilidade de que canais possam ter existido dentro de sua hipótese paucimolecular (retirada de [169]). O F. Resumo de Danielli de diferentes modelos de transportadores em 1954 (retirado de [134]).

[Imagem de tamanho completo](#)

Ainda assim, no início dos anos 1950, muito pouco se sabia sobre os próprios transportadores ativos. O progresso importante veio de estudos sobre membranas excitáveis e o transporte de não-eletrodos.

Membranas excitáveis

[1703](#)A teoria da membrana de Bernstein explicou potenciais de ação, assumindo que as quebras de membrana transitórias seriam responsáveis por um aumento da permeabilidade e a subsequente abolição do gradiente de íons ([\[81\]](#), caixas roxas nas Figuras [2](#) e [3](#)). Por algumas décadas, a quebra da membrana foi um mecanismo popular para explicar o cruzamento de íons, mesmo entre os autores que pensavam que as membranas tinham poros [\[139\]](#),[\[142\]](#). Naturalmente, de acordo com essa hipótese, o potencial de ação não poderia superar o potencial de repouso. No entanto, quando as medidas diretas entre um eletrodo interno e externo se tornaram possíveis em 1939, parece que o potencial de ação era maior do que o potencial de [171](#)repouso: um mecanismo diferente da quebra da membrana era necessário para explicar essas observações. Em 1952, após tentativas frustradas de explicar a superação com base apenas na permeabilidade K^+ e alterações de membrana, Hodgkin e Huxley publicaram em uma série de artigos que estabeleceram a sequência de entrada de Na^+ e saída K^+ responsáveis pela despolarização e hiperpolarização nas membranas de axônio [\[172\]](#),[\[173\]](#).

Em sua palestra para o Prêmio Nobel, Hodgkin destacou o fato de que, apesar de sua descoberta radical, pouco se sabia sobre como esses íons fluíam. Como os poros já eram assumidos para existir para o movimento de descida de K^+ através da membrana, essa questão chamou relativamente pouca atenção. Pelo contrário, uma vez que o Na^+ hidratado é maior do que o K^+ hidratado, como um poro poderia selecionar especificamente para o fluxo de Na^+ e evitar simultaneamente o movimento K^+ ? Sugeriu-se pela primeira vez que Na^+ usou um transportador lipídico específico que poderia atravessar a membrana quando foi despolarizada [\[174\]](#), mas essa trilha foi descartada porque foi contrariada pela cinética relatada do movimento Na^+ [\[172\]](#). Outra questão relacionada também atraiu muita atenção: como os íons poderiam atravessar a membrana contra seu gradiente após o potencial de ação para recuperar os valores observados no estado de repouso? Esta pergunta já havia sido feita por Overton 50 anos antes de [\[136\]](#),[\[170\]](#) e as respostas de processo tinham sido as mesmas que tentavam explicar a assimetria de distribuição de íons (ver seção anterior). Por exemplo, Conway sugeriu que seu mecanismo baseado no equilíbrio de Donnan também poderia explicar os potenciais de repouso no nervo [\[142\]](#), mas a atenção progressivamente se moveu para o transporte ativo, pois essa hipótese se tornou dominante [\[157\]](#).

Os tecidos excitáveis tornaram-se um dos modelos favoritos para o estudo do transporte ativo. Por um lado, Na^+ ou Na^+ / K^+ ^{transporte} em axônios mostrou depender da disponibilidade de glicose e ser afetado por vários inibidores da fosforilação oxidativa [\[175\]](#)-[\[177\]](#), por outro lado, alguns relatórios preliminares apontaram para a existência de uma atividade ATPase localizada na fração lipídica de axons [\[178\]](#),[\[177\]](#). Em 1957, Skou encontrou uma conexão entre a ATPase e a atividade dependente de íons presente na fração hidrofóbica-membrana – do nervo (pelo qual ele também ganhou um prêmio Nobel).[180](#) Esta observação lançou um interesse esmagador sobre as ATPases que

levou a um rápido acúmulo de dados cobrindo ATPases de diferentes espécies, tecidos e funções [181]. Em 1965, algumas características da ATPase relevantes na compreensão da estrutura da membrana tornaram-se sabedoria convencional: (1) os transportadores ativos estavam localizados na membrana celular (Figura 11 A); (2) eles atravessavam a membrana e eram assimétricos, ou seja, mostraram diferentes afinidades em cada lado da membrana; e (3) como eles enzimáticos hidrolisados ATP, eles eram uma parte intrínseca do metabolismo celular.

Como veremos a seguir, esse progresso na compreensão dos transportes foi paralelo por estudos simultâneos sobre a captação não-elétrica. A combinação de todos esses diferentes estudos reforçou a noção de que as proteínas da membrana eram enzimas fortemente relacionadas ao metabolismo e à bioenergética celular.

Metabolismo alocado por membranas e transportadores semelhantes a enzimas

Como os não-eletrólitos entraram na célula também foi uma questão de especulação por um longo tempo [182]. Inicialmente, se as moléculas não-elétricas tivessem cruzado as membranas através de seu componente lipídico ou através de um poroso putativo, a difusão regular deveria ter sido suficiente na previsão de suas taxas de permeabilidade. Pelo contrário, várias observações intrigantes começaram a acumular-se no primeiro quartel do século XX. Por exemplo, foi demonstrado que o intestino absorveu alguns açúcares mais facilmente do que outros, mesmo quando os estereoisômeros foram comparados [182]-[185], e que alguns açúcares entraram nos eritrócitos mais rapidamente quando as concentrações externas eram menores [182],[186]. Em 1935, as análises cinéticas precisas de Jacques mostraram que a permeação era um processo saturável ([187] caixas cor-de-rosa na Figura 33). Este resultado adiou o envolvimento dos transportadores na permeação não eletrólise [164]. Na década de 1950, um interesse revitalizado na cinética transportadora revelou que algumas moléculas agiam como inibidores de transporte [182, 188] e que os transportadores eram regulados por seus próprios substratos [189]. Estes resultados reforçaram a conexão entre transportadores e enzimas não só em eucariontes, mas também em bactérias [63], [71][166],[186]-[191].

Como resultado do acúmulo de dados cinéticos, genéticos e energéticos, novas hipóteses de transporte surgiram na década de 1950. A visão clássica era que o transportador era uma molécula presente em quantidades equivalentes em ambos os lados da membrana e capaz de simplesmente transportar a molécula anexada de um lado para o outro [162],[191]. A Figura 11 resume as muitas novas modalidades de transporte previstas nas décadas de 1950 e 1960 [134],[192]: (1) um pequeno transportador mecânico impulsionado de um lado da membrana para o outro [193]; (2) um transportador de membrana capaz de virar-flop; (3) uma divisão da membrana em segmentos rotativos; ou (4) uma proteína semelhante a um canal em que os substratos poderiam interagir especificamente com diferentes amino-ácidos [166]. Uma hipótese adicional, provocativa e frutífera foi adicionada por Mitchell em 1957 [167]. Seu modelo (Figura 11 C) é impressionante no início porque assumiu claramente que o transportador era uma proteína embutida na membrana; tal proteína era metabolicamente acionada, semelhante a uma enzima e capaz de balançar seu local de anexação de um lado da membrana para o outro de acordo com suas alterações conformacionais.

Embora indireta, a contribuição de Mitchell para a compreensão da membrana deve ser enfatizada. Como ex-aluno de Danielli, ele tentou ativamente preencher a lacuna entre a comunidade que trabalha nas membranas celulares e aqueles que estudaram o metabolismo [194]. Além de sua sugestão para um transportador, sua hipótese quimiosmótica certamente marcou um ponto de viragem na forma como as membranas foram imaginadas. Aqui também, seria inapropriado rastrear uma conta detalhada sobre bioenergética de sua origem (ver [134],[195] para detalhes). Basta lembrar que, em 1961, a formulação da hipótese quimiosmótica foi responsável pela inclusão da cadeia respiratória dentro da membrana próton-impermeável. De acordo com essa hipótese, a cadeia respiratória com membranas empregou a energia liberada das reações redox para translocar prótons através da membrana impermeável em prótons, e o gradiente de prótons resultante estava então disponível para uso por ATPases empalhadas com membrana para sintetizar ATP [168]. Embora esta sugestão tenha encontrado pela primeira vez uma oposição vigorosa, tornou-se progressivamente aceita como estudos suplementares refinaram e algumas de suas previsões foram confirmadas [134],[194],[196]. De particular interesse para nós foi a demonstração de que os agentes desacoplamento da fosforilação ADP e do transporte de elétrons não mediarão seu efeito através de uma inibição enzimática direta, mas através do aumento da permeabilidade de prótons em bicamadas lipídicas [197],[198]. Este experimento sustentou a hipótese de que os lipídios eram acessíveis na superfície celular, ao mesmo tempo em que contradiziam o modelo paucimolecular dominante em que as bicamadas fosfolipídicas eram insuficientes para manter um gradiente iônico.

Uma importante contribuição dos estudos de transporte

Em resumo, as décadas de 1950 e 1960 estavam cheias de descobertas aparentemente tangenciais, mas realmente fortemente relacionadas às membranas celulares. Esses debates diziam respeito à permeabilidade celular, à formação de gradientes ou à conexão com o metabolismo. A transformação sonora que ocorreu nesses campos durante esses anos melhorou o conhecimento de muitos componentes da membrana, especialmente proteínas. As bombas, transportadores, cadeias respiratórias e ATPases estudadas nessas linhas de pesquisa exigiram que as proteínas da membrana tivessem acesso a ambos os lados da membrana. Embora a existência de proteínas transmembranadas estivesse longe de ser totalmente aceita, essas hipóteses certamente impactaram as ideias contemporâneas na estrutura da membrana em um momento ainda não dominado pelo modelo de mosaico fluido.

Rumo a um novo modelo de membrana

Primeiros insights da microscopia eletrônica

A microscopia eletrônica surgiu na década de 1930 e as primeiras tentativas de aplicá-la à elucidação da estrutura celular rapidamente se seguiram. No entanto, não foi até a década de 1950 que resoluções mais nítidas permitiram a observação direta das membranas celulares [88],[199],[200]. Além de corroborar sua existência, esperava-se que a visualização das membranas celulares fornecesse uma poderosa ferramenta para investigar sua estrutura. Paradoxalmente, em vez de tornar as coisas mais claras, as imagens de microscopia eletrônica lançaram 15 anos de um debate apaixonado sobre a estrutura da membrana celular (caixas verdes claras na Figura 3).

De fato, a interpretação das figuras obtidas foi difícil e naturalmente influenciada por concepções anteriores de estrutura de membrana. Por exemplo, Hillier e Hoffman observaram a superfície dos eritrócitos em 1953 e descreveram sua membrana como composta de “placas” superficiais ligadas a um material fibroso interno subjacente [199]. Essa hipótese buscou conciliar tanto o modelo paucimolecular quanto a teoria dos poros: por um lado, pensava-se que as placas e fibras correspondiam ao envelope proteico da membrana do modelo paucimolecular; por outro lado, sugeriu-se que o espaço variável deixado entre as placas fosse responsável pela variabilidade do diâmetro dos poros no modelo mosaico. No mesmo ano, 1953, Frey-Wyssling e Steinmann examinaram a superfície thylakoid de cloroplastos vegetais com o microscópio eletrônico [201]. Eles viram uma superfície granular e sugeriram que as membranas bilóides eram compostas de subunidades globulares de lipoproteínas – uma possibilidade que seria amplamente explorada na próxima década.

A melhora na resolução da microscopia eletrônica e na preparação da amostra também permitiu a observação de seções transversais da membrana. Essas obras pioneiras levantaram a questão de qual estrutura visual deve ser assumida como o limite da célula [8]. Essa questão foi muito desafiadora, dados os materiais biológicos que eram frequentemente usados para essas observações: músculos, nervos e microrganismos exibiram estruturas externas complicadas que dificultavam a determinação de qual camada correspondia à membrana celular. Mesmo quando as estruturas extracelulares foram descartadas, a interpretação da camada superficial restante da célula ainda não era evidente. Seções transversais dessa camada superficial revelaram a estrutura conhecida como “trilha ferroviária”: duas linhas densas separadas por um espaço médio e mais leve. No entanto, qual entre toda a estrutura ou uma das partes densas deve ser considerada como a membrana celular por excelência? Em 1959, Robertson comparou uma coleção de imagens de seção transversal e observou que toda a ferrovia foi consistentemente observada em uma variedade de células. Ele pensou que a via férrea se encaixava no modelo paucimolecular, assumindo que as partes escuras eram as camadas de proteína e o sanduíche mais leve, a bicamada lipídica. Como resultado, ele considerou toda a estrutura como a membrana celular. Embora sua hipótese não fosse significativamente diferente do modelo paucimolecular, ele renomeou esse modelo como “membrana unitária” para enfatizar dois pontos: Primeiro, que as três camadas observadas nas fotos de seção transversal do microscópio eletrônico faziam parte da mesma estrutura, a membrana celular, independentemente dos outros envelopes celulares que poderiam existir; e segundo, que essa estrutura era universalmente compartilhada entre todas as membranas biológicas [202].

A diversidade de membranas biológicas

A controversa formulação da hipótese da membrana unitária anunciou um confronto implacável na década de 1960 entre o modelo predominante na época (a hipótese paucimolecular) e a plethora de outras explicações de membrana sugeridas pela quantidade crescente de informações contraditórias.

Muitos autores questionaram a ideia de que um modelo de membrana único poderia explicar todas as membranas biológicas porque parecia contraditório com a grande diversidade de membranas que estava sendo descoberta na época [9],[203]. Por exemplo, foi observado que a relação proteína-lipídio de diferentes membranas poderia variar de 1:4 a 5:1, sugerindo que a quantidade de proteínas de membrana nem sempre

foi suficiente para cobrir inteiramente a superfície celular.⁹ Além disso, a falta de resolução impediu a observação da via férrea em algumas bactérias, implicando assim que a estrutura de três camadas nem sempre era visível ou não era universal [204]. A ampla diversidade funcional de membranas também pareceu contradizer a membrana unitária: como a membrana isolante dos nervos mielinizados poderia ter a mesma estrutura que as membranas metabolicamente ativas responsáveis pela fosforilação oxidativa e pela fotossíntese ⁹[9]?

Por algum tempo, a ideia de que as membranas biológicas poderiam ser compostas de subunidades específicas pareciam atraentes. Essas hipóteses eram extensões naturais das imagens anteriores de microscopia eletrônica do tiláculo por Frey-Wyssling e Steinmann e foram popularizadas pela observação de estruturas repetitivas semelhantes no cloroplasto [205], 206mitocôndrias [207],[207208],[207] ou até mesmo membranas plasmáticas [209]. Essas hipóteses geralmente implicavam que as subunidades poderiam ser diferentes de uma membrana para outra e explicar a diversidade funcional da membrana ⁹[9]. Como estava se tornando mais geralmente aceito que lipídios e proteínas interagem principalmente através de suas partes hidrofóbicas, alguns autores imaginaram as subunidades como misturas micelares dinâmicas de proteínas e lipídios [210],[211]. Imagens de microscopia de elétrons de capsides virais também emprestaram crédito à visão de que as membranas poderiam ser compostas de subunidades [212]. De uma perspectiva histórica, é digno de nota que esses modelos enfatizaram o papel dominante das proteínas como os principais componentes estruturais das membranas – uma ideia da moda em um momento em que os desenvolvimentos radicais estavam sendo feitos em biologia molecular [213]. As chamadas subunidades que estavam sendo observadas provavelmente correspondiam às proteínas funcionais que dominavam as membranas mitocondriais e cloroplásticas, por exemplo, ATPases ou fotossistemas.

Dadas as críticas, até mesmo os defensores do modelo paucimolecular foram obrigados a adotar algumas modificações. Por exemplo, em uma revisão de 1964, Brady e Trans incorporaram algumas características que prefiguraram a formulação moderna do modelo de mosaico fluido: (1) as proteínas também penetraram na membrana e, portanto, a membrana era um mosaico lipídico-proteico; (2) as membranas não eram homogêneas, mas podiam ter segmentos de membrana específicos para algumas funções de permeabilidade; (3) os componentes lipídios da membrana eram fluidos; e (4) a formação de membrana foi regida pela busca termodinâmica da estrutura de menor energia²¹⁴.

Assim, apesar da membrana unitária de Robertson, o debate sobre a estrutura da membrana cresceu constantemente na década de 1960. Embora os debates se cristalizem principalmente em torno da membrana unitária e das hipóteses baseadas na subunidade, a mudança de perspectiva que permitiu a prevalência do modelo de mosaico fluido foi altamente impactada pela coleta de evidências conclusivas de novas técnicas.

Evidência de uma nova hipótese de membrana

Bicamadas lipídicas artificiais

A maioria dos estudos sobre moléculas anfipáticas até agora foi focada em monocamadas moleculares. As primeiras bicamadas lipídicas foram preparadas

artificialmente na década de 1960 por Mueller e colaboradores (caixas vermelhas na Figura 33), proporcionando assim um modelo muito mais adequado para ser comparado às membranas biológicas [215]. As membranas sintéticas mostraram que as bicamadas lipídicas eram estáveis mesmo quando as proteínas estavam totalmente ausentes. Essa observação não refute o modelo paucimolecular, mas foi uma importante contradição à suposição de Danielli de que as bicamadas lipídicas nuas eram muito delicadas para atuar como limites [216]. A adição de proteínas às membranas lipídicas artificiais deu alguma visão sobre a capacidade dos peptídeos de conferir permeabilidade e excitabilidade nas membranas [215],[217]. Além disso, quando as bicamadas lipídicas artificiais foram examinadas com o microscópio eletrônico, revelou uma via férrea semelhante às membranas biológicas [218]; esse resultado estava em desacordo com a ideia de que camadas densas correspondiam às proteínas que revestiam a membrana no modelo paucimolecular. Finalmente, uma melhor compreensão dos parâmetros que regia a interação lipídica permitiu que Bangham e colaboradores preparassem os primeiros lipossomas (ou seja, vesículas artificiais delimitadas por uma bicamada lipídica [219]) em 1965. De fato, os lipossomas foram observados já em 1854 por Virchow [220]; [221] eles tinham sido estudados por Lehmann e Reinitzer na virada do século [221] e [222] suspensões lipídicas tinham sido feitas ao longo do século, mas autores anteriores não conseguiram entender que os lipossomas encerravam a fase anênica [221]. Agora, os lipossomas rapidamente se tornariam estruturas importantes no estudo da permeabilidade da membrana e permitiriam uma comparação frutífera com as membranas biológicas.

Fratura de membranas congeladas

Os primeiros resultados da microscopia eletrônica foram criticados porque as estruturas nativas eram suspeitas de serem modificadas pela fixação química do material biológico [9]. Esta crítica foi contornada pelo desenvolvimento do método de congelamento-etro de queimaduras por Moor e Muhlethaller em 1963 [223]. Nesta técnica, a amostra é congelada para fixação e fratura antes de ser examinada com o microscópio eletrônico (caixas verdes de luz na Figura 33). Branton e colaboradores realizaram análises adicionais com membranas lipídicas naturais e artificiais no final dos anos 1960. Eles descobriram que a técnica de congelamento manteve as interações hidrofílicas na superfície, mas cancelou as forças hidrofóbicas no interior da membrana, permitindo assim que a membrana fosse quebrada entre as duas bicamadas lipídicas [224],[225]. Como o interior da membrana natural tornou-se visível, algumas protuberâncias foram relatadas no lado interno de cada monocamada que foram espelhadas por depressões na monocamada oposta. De acordo com esses resultados, as membranas foram entendidas como bicamadas lipídicas intercaladas com “globulas” que em breve seriam assimiladas nas proteínas da membrana [226].

Fluideidade da membrana

Uma das primeiras questões de estudos de membrana foi se as membranas eram melhor representadas como líquidos ou sólidos [65],[106],[227]. Um passo gigante foi feito em 1970 por Frye e Edidin quando fundiram duas células (uma humana, um rato) juntas para monitorar o destino de suas membranas ([228] caixas verdes escuras na Figura 33). Cada célula transportava diferentes antígenos de superfície cujos movimentos poderiam ser monitorados usando um anticorpo fluorescente. Após a fusão celular, as duas fluorescências de membrana tornaram-se progressivamente misturadas, sugerindo assim

que os componentes da membrana foram capazes de se difundir livremente no plano da membrana.

Interações de proteína-lipídeos

Como explicado anteriormente, foram buscadas as primeiras definições de anfipatia, hidrofobicidade e hidrofília na década de 1910 (caixas verdes escuras nas [Figuras 2 e 33](#)). No entanto, não foi até a década de 1960 que funciona como os de Haydon e Taylor enfatizaram o papel dramático da termodinâmica para determinar a estrutura das membranas biológicas.²²⁹ Mesmo quando o argumento termodinâmico entrou na discussão de membranas biológicas, as primeiras tentativas de explicar essas restrições não conseguiram avaliar completamente sua intensidade. Interações hidrofóbicas e hidrofílicas demonstraram o contato entre lipídios e proteínas [[230](#)], mas as primeiras hipóteses muitas vezes assumiram que as misturas micelares de lipídios e proteínas teriam sido as estruturas mais estáveis [[231](#)], favorecendo assim os modelos baseados em subunidades.

Um avanço significativo foi alcançado quando o estudo da conformação da proteína da membrana se tornou possível. O modelo paucimolecular inicial tinha representado as proteínas de revestimento como globulares¹¹⁵, mas na década de 1960 a evolução do modelo levou à suposição de que as proteínas foram desembrulhadas em uma conformação semelhante a uma folha beta [[108](#)]. Em 1966, vários estudos mostraram que as proteínas da membrana tinham uma conformação alfa ou globular em vez de uma estrutura beta.²³²²³⁴ As hélices alfa foram sugeridas para atravessar a membrana, proporcionando assim uma estrutura estrutural às proteínas transmembranais que haviam sido previstas nos estudos de permeabilidade e transporte. Esses trabalhos também reconheceram a importância das restrições termodinâmicas para determinar as interações lipídios-proteína e foram especialmente influentes porque alguns de seus autores, especialmente Singer, participaram da formulação da versão atual do modelo de mosaico fluido.

Nascimento e vida do mosaico fluido

Em 1971 e 1972, Singer e Nicolson apresentaram seu modelo de mosaico fluido de estrutura de membrana celular. Os fundamentos do modelo permaneceram os mesmos desde então: a membrana é uma bicamada lipídica com partes hidrofílicas nos lados e partes hidrofóbicas no interior; as proteínas podem interagir com a superfície através de contatos polares transitórios, mas muitas proteínas estão parcial ou totalmente embutidas na bicamada lipídica, onde suas partes hidrofóbicas também interagem com as partes hidrofóbicas (Figura [11](#)).

Diante do relato histórico sobre a descoberta da membrana celular que relatei, é evidente que o sucesso do modelo do mosaico fluido não estava tanto em sua originalidade quanto em sua pontualidade e escopo: acomodava a maioria das evidências disponíveis em seu tempo e fazia previsões que seriam demonstradas mais tarde.

Por um lado, o modelo foi apoiado por evidências de diferentes origens: (1) os estudos de permeabilidade e transporte que previam proteínas transmembranais semelhantes a enzimas [[167](#)]; (2) a aparente falta de lipídios para compor bicamadas completas [[94](#)],

apontando assim para a participação de proteínas no plano de membrana; (3) quadros de microscopia eletrônica, incluindo estudos de congelamento que sugeriam a presença de proteínas dentro das membranas [224];[219]; e (5) as conformações favoráveis previstas para as proteínas da membrana [233].

Por outro lado, o modelo foi ainda mais influente devido às suposições que destacou ou recentemente previu. Primeiro, como foi profundamente estabelecido em terrenos termodinâmicos, o modelo melhorou o estudo de forças hidrofóbicas, que posteriormente se tornaria um dos principais parâmetros explicativos para descrever as macromoléculas biológicas [2][2]. É importante ressaltar que, mais do que qualquer generalização a partir de observações biológicas – como foi o caso na membrana unitária, por exemplo – o fato de que o modelo é baseado em restrições físico-químicas universais é o argumento mais convincente para sua aplicação geral em biologia. Além disso, o reconhecimento das restrições hidrofóbicas termodinâmicas melhorou nossa compreensão das proteínas da membrana, que por sua vez melhoraram significativamente nossa imagem das membranas [6][6]. Alguns marcos dramáticos na representação de proteínas de membrana foram a resolução precoce da primeira estrutura tridimensional de uma proteína transmembrana (a bacteriodopolina arqueal, [235]); o desenvolvimento da técnica de patch-clamp, que permitiu a compreensão dos canais de íons únicos [236],[237]; a descoberta da catálise rotatória que permite a síntese de ATPases por ATPases [238]; e [239][240] que intrigam os biólogos celulares há mais de um século [241]. Curiosamente, agora que nosso conhecimento sobre as proteínas da membrana se desenvolveu, a importância da interação lipídica para o dobramento de proteínas está se tornando mais clara e ainda é uma linha promissora de pesquisa para o futuro [242],[243].

Em segundo lugar, uma vez que este modelo é intrinsecamente fluido, previu que a distribuição da maioria das moléculas na faixa lateral seria essencialmente aleatória, mas também sugeriu que aglomerados específicos (ou seja, microdomínios) podem se formar [1][1],[244]. Embora ignorados principalmente por algum tempo, esses microdomínios têm sido objeto de pesquisa intensiva nos últimos 20 anos e a recente introdução de novas técnicas deve continuar a melhorar nossa compreensão das interações entre os componentes da membrana [245],[246]. Outra prova de que a natureza fluida das membranas continua a ser um assunto a ser explorado tem sido o recente interesse em transições de estado em membranas: na última década, alguns biofísicos estudaram como as transições de membranas de fluido para gel sob compressão podem permitir revisitar o mecanismo de propagação de pulso de Hodgkin e Huxley em membranas excitáveis [247].

Finalmente, a assimetria das membranas também provou ser uma característica frutífera para explorar. A ideia de que as membranas tinham componentes diferentes nos lados interno e externo da membrana não era nova, mas essa hipótese foi levada um passo adiante porque o modelo forneceu uma explicação: a energia alta e livre de ativação necessária para a parte hidrofílica de um componente de membrana para atravessar o núcleo de membrana hidrofóbica impediu a queda aleatória [1][1]. Assim, a assimetria que já era suspeita de oligossacarídeos [248],[249] foi rapidamente estendida na década de 1970 para lipídios, proteínas transmembranas ou proteínas periféricas – por exemplo, aquelas relacionadas ao citoesqueleto [235],[250]-[253].

Em resumo, desde a sua formulação na década de 1970, o modelo de mosaico fluido foi modernizado para explicar mais observações, mas pouco foi alterado. É a hipótese mais explicativa para entender as membranas biológicas.

Conclusão

Uma revisão da historiografia da membrana celular

Embora o assunto da descoberta da membrana celular possa certamente ser desenvolvido, as informações aqui revisadas já devem ser suficientes para apontar as principais limitações da maioria dos relatos históricos curtos anteriores sobre esse tópico [5](#)[5]-[7](#)[7],[9](#)[9],[10](#)[10],[[202](#)]. Vou tentar basear minha discussão crítica em alguns argumentos que Kuhn usou para criticar o que ele chamou de “fontes de autoridade”. Estas críticas não estão necessariamente relacionadas com o seu conceito bem conhecido de revoluções científicas, mas também abordarei brevemente a questão, a fim de alargar a perspectiva desta revisão.

O conceito de Kuhn de revoluções científicas (ou mudanças de paradigma) postula que a ciência não só evolui através do acúmulo gradual de evidências, como se pensava anteriormente, mas também através de revisões dramáticas de dados anteriores que mudam radicalmente a opinião geral de uma determinada comunidade científica sobre um assunto [[254](#)]. Desde a sua formulação, o conceito de paradigma tem sido extensivamente mal utilizado [[255](#)] e as ideias de Kuhn têm sido frequentemente denunciadas na biologia devido à dificuldade em identificar exemplos de revoluções científicas de relatos históricos específicos [256](#)- incluindo o campo de transporte de membranas [[134](#)],[[135](#)]. Curiosamente, a formulação do modelo de mosaico fluido moderno tem recentemente atraído algum interesse epistemológico [[213](#)]. Este trabalho recente sugeriu que o modelo de mosaico fluido não expulsou seu antecessor através de uma revisão completa dos dados disponíveis em um sentido kuhniano; em vez disso, foi o resultado de um esforço de síntese entre novas evidências e diferentes modelos. Meu relato histórico apoia essa interpretação sintética, pois mostra que vários modelos de mosaico antecederam a hipótese de Singer e Nicolson; a aceitação final do mosaico fluido não resultou de uma nova mudança de perspectiva, mas do acúmulo de dados de suporte de diversos experimentos. Claro, isso não nega a contribuição radical de Singer e o modelo de Nicolson para a biologia atual.

De acordo com esta análise, acho que se a história da descoberta das membranas celulares pode ilustrar alguma mudança dramática na perspectiva em biologia, deve ser a transição da compreensão da célula como um colóide para a solução limitada e altamente concentrada atualmente em uso. Eu acho que essa transição poderia ser entendida em termos de Bachelardian como uma descontinuidade entre a era pré-científica da biologia e da ciência moderna [[257](#)]. No entanto, não está no escopo desta revisão realizar uma análise epistemológica detalhada sobre a história da Célula, então agora passarei para os outros argumentos kuhnianos que eu acho diretamente relevantes para a análise crítica da historiografia da membrana celular.

Quando Kuhn tentou explicar a dificuldade em explicar as revoluções científicas, ele fez um caso particular para a análise das fontes de autoridade, ou seja, livros didáticos de ciência, obras filosóficas e algumas apresentações de divulgação da ciência [[254](#)]. Ele criticou que a maioria dessas fontes não forneceu um relato histórico abrangente dos

eventos reais da maneira como eles eram entendidos no momento de sua descoberta. Esses textos, em vez disso, apresentaram experimentos individuais ou pensamentos que poderiam ser facilmente vistos como contribuições explicativas para o paradigma atual. Como o objetivo desses textos não era fornecer um relato detalhado dos eventos históricos, eles tendiam a enfatizar alguns “grandes heróis de uma época anterior” dispersos em sua relação com o paradigma moderno e omitir interpretações contemporâneas e ideias opostas para preservar a clareza. Embora esses dispositivos possam ser adequados para fins pedagógicos, tal apresentação distorce a reconstrução histórica real. O estaco nesta estratégia não é apenas que ela pode contribuir para esconder uma revolução científica, como temia Kuhn, mas também fazer uma historiografia imprecisa e simplificada torna-se repetida e estabelecida.

Se retornarmos à história da descoberta da membrana, é alarmante ver quão bem as críticas de Kuhn às "fontes de autoridade" correspondem a algumas insuficiências nos curtos relatos históricos [5](#)[5]-[7](#)[7],[9](#)[9],[10](#)[10],[[202](#)]. Alguns exemplos disso são: (1) o fato de que a descoberta de membrana é sistematicamente apresentada como um processo muito linear que evita as muitas linhas simultâneas de pesquisa e debates que existiram ao longo da história – por exemplo, a omissão da coexistência entre os modelos paucimolecular e o mosaico na primeira metade do thséculo XX; (2) a apresentação de apenas algumas experiências emblemáticas que supostamente resolveram o paradigma atual, enquanto uma análise menos apressada mostra que o escopo desses experimentos foi repetidamente de acordo com a análise dos experimentos de; e, mais surpreendente, (3) o relatório incompleto (e enganoso) de alguns experimentos para se encaixar em nosso entendimento atual, como no caso de Gorter e Grendel. Essas imprecisões provavelmente têm pouco impacto em nossa pesquisa de membrana atual, mas devemos estar cientes de sua existência, a fim de evitar perpetuar uma linha do tempo historicamente questionável.

Espero que esta revisão encoraje outros estudiosos a revisar criticamente nossas contas curtas em campos tradicionalmente sub-representados nos estudos de História da Ciência como, por exemplo, biologia celular, microbiologia e bioquímica.

Perspectivas de um contexto histórico

A análise histórica da formulação do modelo de membrana atual não é relevante apenas para os interessados em membranas: também pode fornecer algumas linhas de reflexão sobre a evolução precoce, o conceito de célula mínima, as origens da vida e a vida sintética. Todos esses assuntos questionam nossa visão da célula, e a membrana é indiscutivelmente um dos componentes mais essenciais do conceito de unidade de vida.

Para começar, podemos recuar para fazer a pergunta da própria necessidade da noção de unidade de vida. Tem sido argumentado que a Teoria Celular está no atomismo biológico, que postulou a existência de uma unidade de vida indivisível básica bem antes que qualquer descrição precisa desta unidade pudesse ser feita [[258](#)]. De acordo com essa análise apelativa, a ideia atomística permaneceu implícita junto com as novas descobertas que levaram e estabeleceram a Teoria das Células. Mesmo os oponentes passados e presentes à Teoria Celular parecem concordar com a ideia atomística, pois seus argumentos desafiam a relevância da Célula como unidade de vida, mas não a existência de uma “unidade” em si [[258](#)]. Determinar a adequação do atomismo biológico é uma questão epistemológica profunda, que não é o assunto aqui. No entanto,

se aceitarmos que a unidade da vida é uma realidade que podemos estudar apesar da diversidade de opiniões sobre a identidade desta unidade, o atual candidato preferido para esta posição entre os biólogos permanece a Célula. Portanto, como todas as células conhecidas são delimitadas pelas membranas celulares, a compreensão da importância dessas estruturas torna-se crucial para a nossa definição atual da unidade de vida.

A análise histórica apoia o reconhecimento progressivo nas últimas décadas da importância dos limites celulares nos campos da evolução precoce e das origens da vida [259] [256261]:

1. 1.

Como unidade de vida, a célula envolve algum tipo de identidade que a diferencia de outras células e do ambiente. Uma vez que também tem uma estrutura composta, a célula requer um mecanismo para manter todos os seus componentes juntos. Historicamente, dois mecanismos foram previstos: ou todos os componentes permanecem juntos porque estabelecem interações diretas em uma rede física (a química coloidal) ou são compartimentados por alguma estrutura. É importante lembrar que, mesmo após a descoberta da membrana celular, a hipótese coloidal sobreviveu a muitos anos e só foi substituída quando as macromoléculas biológicas começaram a ser analisadas como estruturas discretas. Isso é relevante para as origens da vida, bem como estudos de vida sintéticos, porque suporta o pensamento atual de que a compartimentalização é uma das características básicas de qualquer célula [259]-[261], não importa quão primitiva ou mínima possa ser.

2. 2.

A membrana incorpora uma das principais características paradoxais da vida: uma célula é um sistema dependente de compostos externos e energia para manter as diferenças que mantém com o mesmo ambiente onde obtém sua matéria-prima. Embora as membranas tenham sido pensadas há muito tempo como estruturas passivas que apenas permitiram que os solutos se difundissem através delas, agora sabemos que as membranas modernas são necessariamente dotadas da capacidade de controlar a entrada e saída de moléculas, dependendo de suas necessidades, mesmo às vezes contra os gradientes químicos. De acordo com essa observação, parece importante incluir um pensamento sobre mecanismos de transporte (ativos) em todas as obras que tentam descrever a vida nascente. Isso não significa que estruturas complicadas, como as proteínas, tenham que estar presentes desde o início da compartimentalização. Por exemplo, a formação de gradiente transmembrana com base na dinâmica da membrana e moléculas alternativas de transporte (por exemplo, Moléculas de RNA) têm sido estudadas nos últimos anos [262]-[265]. Podemos esperar que a consciência da importância do transporte (ativo) para todas as células em breve atraia mais atenção para este assunto fascinante dos pesquisadores que trabalham nas origens da vida.

3. 3.

Ao contrário das primeiras suposições sobre as membranas, uma das principais bases sobre as quais o modelo de mosaico fluido é construído é a sua estrutura dinâmica em constante mudança. Isso permite que as membranas modernas alterem constantemente suas atividades de acordo com os requisitos da célula e é provável que o mesmo possa ter ocorrido nas membranas iniciais. Tal dica é promissora porque poderia se cruzar com o crescente interesse das origens da vida no estudo das habilidades de mudança das membranas compostas de soluções anfífilas mistas [266]-[268].

4. 4.

Finalmente, há pelo menos dois aspectos fundamentais das membranas que não foram discutidos nesta revisão porque sua contribuição para a compreensão das membranas foi baixa, mas não podem ser negligenciados quando se referem a contribuições de membrana para as células. Estas são a divisão das membranas e seu papel como transdutores de mensagens do ambiente. Embora a divisão da membrana já tenha atraído alguma atenção no contexto das origens da vida [269], muito pouco se sabe sobre as interações entre as células iniciais. Espero que ambos os assuntos sejam mais explorados no futuro próximo.

Comentários dos Reviewers

Agradeço aos revisores pelos seus comentários. O manuscrito foi revisado duas vezes levando em conta suas observações.

Primeira rodada

Árbitro 1, Dr. Étienne JolyTraminhiga

Este manuscrito de Jonathan Lombard fornece um relato histórico muito completo e detalhado da evolução da noção de limites celulares ao longo dos 300 anos que se estendeu entre o reconhecimento inicial de que os organismos vivos eram compostos de células, em meados do século XVII, e 1972, com o advento do modelo de mosaico fluido, e a visão agora geralmente aceita de que todas as células vivas são cercadas por membranas biológicas feitas de bicamadas lipídicas. Embora eu não seja competente para julgar a precisão deste relatório histórico, e não saberia se obras equivalentes foram publicadas anteriormente, sinto que este manuscrito deve representar uma adição valiosa ao campo, e que as partes finais do manuscrito, e a discussão em particular, levantam várias questões e perspectivas interessantes.

Todas essas coisas boas sendo ditas, apesar da tremenda quantidade de trabalho histórico que claramente foi para montar este manuscrito, devo admitir que eu tenho achado que a leitura deste manuscrito é bastante pesada, e até mesmo muito difícil para as primeiras partes históricas. Eu comuniquei inúmeras correções e sugestões editoriais ao autor diretamente, e espero que isso o ajude a produzir um manuscrito revisado que seja mais fácil de ler e, portanto, mais útil para a comunidade científica.

Resposta do autor: Agradeço ao árbitro por suas sugestões construtivas para facilitar a leitura da revisão. A estrutura geral da nova versão do manuscrito permaneceu

inalterada, mas reescrevi muitos parágrafos e embaralhei algumas seções para esclarecer sua mensagem. Eu também tentei tornar as transições entre parágrafos mais fluentes e eu removemos informações redundantes para tornar mais óbvio o fio comum do texto. A nova versão do jornal foi verificada por um jornalista profissional nativo de inglês que me ajudou a tornar a leitura mais suave. Assim, penso que a versão atual do manuscrito deve ser mais facilmente legível do que a primeira versão.

Árbitro 2, Eugene V. Koonin (em) Koonin (em (em)

Neste longo artigo, o autor descreve, com considerável detalhe, a história da pesquisa de membrana biológica, com ênfase no papel da membrana como o limite celular ativo que determina o que entra ou sai da célula e o que permanece dentro ou fora. É bastante surpreendente ler, como uma submissão a uma revista de biologia, um artigo que aborda seriamente os meandros da história da pesquisa em um campo particular, sem fazer muito esforço para formular qualquer novo conceito sobre as funções ou evolução das membranas. Isso não é uma crítica, a história de conceitos e equívocos é útil e interessante em si.

O que está faltando, da minha perspectiva, neste artigo, é qualquer discussão sobre organelares e outras membranas intracelulares, bem como membranas encontradas em viriões. Mesmo que a ênfase principal esteja no limite celular, o contraste das características das membranas plasmáticas com as dessas membranas distintas, especialmente no contexto do conceito de “membrana ativa”, poderia ser útil.

Resposta do autor: Agradeço ao revisor este comentário. As membranas intracelulares são de fato um assunto fascinante de estudo e eu teria ficado feliz em apresentá-las em minha revisão. No entanto, acho que este manuscrito já é muito longo e, como o primeiro árbitro observou, o principal desafio aqui é permanecer pertinente para manter a atenção dos leitores. Portanto, preferi ficar com o núcleo do assunto, a saber, as origens do conceito de membrana e o modelo de mosaico fluido. Quanto a outros campos, referi-me às membranas intracelulares somente quando o estudo contribuiu diretamente para o enredo que eu estava tentando destacar neste artigo. Mas vou considerar a possibilidade de preparar uma revisão separada sobre a história das membranas intracelulares.

Para mim, o seguinte ponto: “Como a membrana é o elemento celular que decide o que pode ou não entrar na célula, essas entidades requerem membranas ativas. Do meu ponto de vista, esta visão ativa da membrana contradiz algumas hipóteses sobre as origens da vida que favorecem um aumento progressivo na estanqueidade da membrana [264],[265]” parece um non sequitur. Não vejo como essas hipóteses colidem com o conceito de “membrana ativa” e, além disso, têm dificuldade em imaginar a origem das protocélulas sem aperto gradual da membrana.

Resposta do autor: Esta frase foi totalmente removida da nova versão do manuscrito. A fim de ter em conta as sugestões feitas pelo terceiro revisor, a secção final da conclusão foi consideravelmente alterada.

Árbitro 3, Armen Mulkidjanian

A revisão por Lombard é uma boa pesquisa sobre a evolução na compreensão da natureza dos envelopes celulares no decorrer dos últimos três séculos. É uma leitura divertida e não há muito o que comentar.

Ainda há vários pontos que merecem mencionar:

1. 1)

Introdução, linha 31ff: O leitor pode ter a impressão de que quaisquer moléculas lipídicas tendem a se juntar a uma bicamada da membrana como a estrutura mais termodinamicamente estável. Este não é o caso. Uma das condições de formação de uma bicamada é uma correspondência entre os tamanhos das partes hidrofóbicas e hidrofílicas das moléculas envolvidas [1]. Uma bicamada é formada quando essas partes são de aproximadamente a mesma “largura”. Se a cabeça hidrofílica é maior, então a estrutura mais estável não é uma bicamada, mas uma micela. Se, pelo contrário, a parte hidrofóbica é “brota”, então uma micela reversa ou uma chamada fase hexagonal são as estruturas termodinamicamente mais estáveis.

Resposta do autor: O texto foi alterado para contabilizar este comentário. Quando eles são diluídos em água, os anfífilos espontaneamente adotam a estrutura molecular mais termodinamicamente estável, ou seja, a que maximiza as interações hidrofílicas e hidrofóbicas [2]. Essas interações podem ser afetadas por vários parâmetros, como a natureza química das moléculas, seu tamanho, a salinidade e o pH da solução. Em condições biológicas, os fosfolípidios celulares formam uma bicamada na qual as caudas hidrofóbicas se enfrentam no núcleo da estrutura, enquanto as cabeças hidrofílicas interagem com as moléculas de água nos lados. [1 em \(em inglês\)](#))

1. 2)

Seção “Estudos osmóticos e membranas artificiais”, linha 290 ff. A história das “membranas de precisão” é bastante emocionante. Pode ser interessante saber se eles permaneceram uma curiosidade histórica ou se há uma conexão histórica com a engenharia química moderna de sistemas em nanoescala.

Resposta do autor: Agradeço ao árbitro por este comentário. Eu nunca tinha pensado em membranas de precipitação na perspectiva de nanoestruturas. Infelizmente, eu não sei nada sobre engenharia química de sistemas em nanoescala, e isso seria um assunto muito distante do resto da revisão para ser incluído nele. Mas agradeço o comentário e vou mantê-lo em mente para o futuro.

1. 3)

Seções “Metac metabolismo localizado em membranas e transportadores semelhantes a enzimas” e “Início importante de estudos de transporte” : Deve-se notar que alguns resultados diretamente relacionados à estrutura da membrana, aparentemente, não foram reconhecidos pela comunidade imediatamente porque seus autores estavam interessados em assuntos bastante diferentes e, portanto, não enfatizavam esses resultados. Enquanto Singer, como pode ser seguido de suas publicações, estava particularmente interessado em

entender a natureza das membranas biológicas, Peter Mitchell estava mais interessado nos processos de transporte de membranas e mecanismos de conversão de energia. Assim, Mitchell - e seus colegas - precisava (implicitamente) de algum modelo de trabalho de uma membrana biológica. A Figura do artigo de Mitchell de 1957 [2], que é gentilmente redesenhado pelo autor como Figura 10 C, fornece uma apresentação bastante moderna de uma membrana biológica com proteínas de membrana integrais embutidas, sem camadas proteicas que flanqueiam a bicamada lipídica, sem mencionar que o mecanismo hipotético para uma permease da membrana, como mostrado na figura, mais tarde se mostrou válido para a grande maioria das permeases da membrana de fato. Assim, Mitchell não fez nenhuma declaração sobre a natureza das membranas biológicas. Por outro lado, Singer, em seu artigo PNAS publicado nove (!) anos depois, ainda confrontou o esquema com camadas de proteína cobrindo a bicamada lipídica e forneceu evidências sobre a existência de proteína alfa-helical que cruza a bicamada. Além disso, o próprio fato de que moléculas quimicamente diferentes e de transporte de prótons poderiam desacoplar a fosforilação oxidativa difundindo a bicamada da membrana (como mostrado pela primeira vez por Skulachev e colegas de trabalho [4], esta referência deve ser incluída), implica a presença de manchas lipídicas livres acessíveis a partir da fase de água para essas pequenas moléculas; é através de tais manchas que as moléculas desacoplantes poderiam se difundir. Novamente, Skulachev e colegas de trabalho não discutiram a presença dessas manchas livres porque estavam interessados em entender o mecanismo de conversão de energia. Ainda assim, seu modelo de trabalho da membrana deveria ter sido o de uma membrana de mosaico. Assim, os bioenergéticos, particularmente a comunidade “Mitchellian”, tomaram a natureza mosaica da membrana e a existência de proteínas integrais integrais assimetricamente organizadas como concedidas; isso aconteceu vários anos antes de Singer e Nichols publicarem seu artigo seminal. No entanto, os estudos de conversão de energia não forneceram - pelo menos naquela época - qualquer informação sobre a motilidade lateral das proteínas na membrana. Não é incidental que o artigo de Singer e Nicolson [5], além de uma análise estendida dos dados da literatura, também forneceu evidências experimentais da mobilidade proteica em membranas nativas. Esta foi a evidência verdadeiramente nova que ajudou a compilar toda uma imagem de um fluido, membrana de mosaico.

Por causa desse raciocínio, eu sugeriria mover as seções “*metabolismo e transportadores semelhantes a enzimas e membranas*” e “*A importante contribuição dos estudos de transporte*” para o próximo capítulo (“Para um novo modelo de membrana”).

Resposta do autor: Como diz o árbitro, Mitchell e outros autores interessados em bioenergética não abordaram diretamente a questão da estrutura da membrana. Seu trabalho certamente influenciou a forma como as membranas foram consideradas, mas não foi usado como peça de evidência para se opor diretamente ao modelo paucimolecular predominante. Essa é a razão pela qual eu incluí o trabalho de Mitchell e outros no capítulo “Insights dos movimentos através da membrana”, juntamente com outras pesquisas sobre transporte que também influenciaram indiretamente a perspectiva sobre as membranas. Eu acho que mover esta seção para o próximo capítulo (“Rumo a um novo modelo de membrana”) seria difícil de encaixar na minha

conta, então eu preferi mantê-la como era originalmente. A principal modificação que fiz na seção “Metabolismo localizado na membrana” tem sido reduzi-la para tornar a leitura mais fluente, de acordo com o conselho do Árbitro 1. A citação a Skulachev e colegas foi incluída na nova versão do manuscrito.

1. 4)

Seção “Uma revisão da historiografia da membrana celular”. Não estou muito feliz em invocar o conceito de revolução científica do Kuhn em relação à narrativa histórica sobre a evolução das membranas. Thomas Kuhn desenvolveu sua teoria baseada na história da física, portanto, seu modelo não funciona tão bem com assuntos menos exatos. Há um extenso estudo sociológico sobre a “revolução científica” em bioenergética; o livro exemplifica que a mudança de paradigma aconteceu de uma maneira bastante caótica, “não-kusoniana”. Suspeito que o mesmo se pode dizer da revolução na “membranologia”. Como argumentado acima, muitos cientistas, particularmente os primeiros partidários no campo da bioenergética da membrana, usaram um “modelo de trabalho” quase correto de uma membrana já uma década antes de ser formalmente apresentada por Singer e Nicolson. Esse tipo de desenvolvimento dificilmente pode ser imaginado na física. Eu sugiro pular ou modificar esta seção.

Resposta do autor: Concordo com o árbitro no fato de que a aceitação do modelo de mosaico fluido não deve ser considerada como uma revolução científica nos termos de Kuhn. Aparentemente, a mensagem não era clara o suficiente na primeira versão do artigo, então eu modifiquei o texto para enfatizar mais esse ponto. Gostaria de enfatizar que meu principal objetivo ao mencionar o trabalho de Kuhn foi usar suas críticas sobre as “fontes de autoridade” na ciência, não dizendo que o processo histórico aqui descrito era uma revolução kuhniana.

1. 5)

Seção “Perspectivas de um contexto histórico”: Aqui o autor escreve que “*um dos dramáticos mudanças históricos no pensamento sobre as membranas celulares foi o reconhecimento de que as membranas biológicas não eram estruturas inertes, mas muito dinâmicas*”. Como a membrana é o elemento celular que decide o que pode ou não entrar na célula, essas entidades requerem membranas ativas. Do meu ponto de vista, esta visão ativa da membrana contradiz algumas hipóteses sobre as origens da vida que favorecem um aumento progressivo na estantidão da membrana [264],[265]”. Finalmente, ressalta-se que “*a análise histórica nos lembra que as membranas totalmente passivas não parecem muito adequadas para explicar os processos ativos característicos das células vivas, além do transporte de gases e das menores moléculas. Isso não implica que as membranas iniciais tivessem que ter um aparelho proteico desenvolvido para o transporte seletivo, mas qualquer que seja a natureza dos transportadores específicos presentes nas células primordiais, suas funções são indiscutivelmente muito antigas. Eu me pergunto se a presença de uma membrana dinâmica capaz de transportar ativamente moléculas e talvez metabolizá-las não deve ser considerada como um dos requisitos para uma entidade primordial ser considerada viva.*

Da minha opinião, vários assuntos diferentes estão misturados nesta passagem. Eles merecem ser resolvidos.

1. a)

O próprio fato de que proteínas e lipídios se difundem dentro da matriz líquida da bicamada significa que as membranas biológicas são *dinâmicas*. Tanto quanto sei, a natureza dinâmica da membrana biológica não foi desafiada nem pelos autores das mencionadas referências 262 e 266 [7, 8]. nem por mais ninguém nos últimos anos.

2. b)

Segundo o autor, a membrana está *ativa* porque “a membrana é o elemento celular que decide o que pode ou não entrar na célula”. Aqui, é fácil visualizar uma membrana de estado sólido com poros de tamanho particular que “decida” o que pode ou não passar. Esta membrana, embora *não dinâmica*, pode ser considerada ativa *active* usando a própria definição do autor.

3. c)

O uso aparente de termos *dinâmicos* e *ativos* como intercambiáveis pelo autor torna esta passagem ainda mais confusa.

4. d)

Os modelos nas referências mencionadas 262 e 263 [7, 8], que são acusados de implicar membranas passivas, de fato, se baseiam na suposição de que as primeiras membranas poderiam ser impermeáveis a grandes moléculas poliméricas, mas permeáveis a moléculas pequenas. Assim, essas membranas já podem decidir “o que pode ou não entrar na célula” e devem ser categorizadas como *ativas* de acordo com Lombard. Essa visão de membranas primordiais não é original e pode ser atribuída aos estudos de Deamer, Luisi, Szostak, Ourisson, Nakatani e seus colegas de trabalho [9-17]. Esses autores argumentaram que moléculas anfífilas formaram abioticamente, provavelmente, ácidos graxos de compostos poliprenol ramificados e fosforilados [10, 12, 14, 18, 19], que podem ter envolvido as primeiras células, não poderiam ser tão sofisticados quanto os lipídios de duas caudas modernos. Vesículas formadas a partir de tais moléculas são milhões de vezes mais vazadas que vesículas dos modernos lipídios de duas caudas [18]. Assim, tais vesículas poderiam prender grandes polímeros, mas não pequenas moléculas e íons. Esse vazamento, no entanto, poderia ter sido uma vantagem fundamental. Na ausência de proteínas de transporte empachadas por membrana, que aparentemente poderiam emergir apenas em um passo relativamente tardio da evolução, após o surgimento de proteínas solúveis em água [20], o vazamento de membrana deveria ter permitido o “consumo” de diversas pequenas moléculas pelas primeiras células. Por sua vez, isso favoreceria o desenvolvimento de sistemas que poderiam reter pequenas moléculas, anexando-as a polímeros intracelulares - e, assim, impedindo sua fuga. Assim, as membranas com vazamento poderiam ter impulsionado o surgimento de diferentes polimerases, incluindo o sistema de tradução. A

viabilidade de tal mecanismo foi demonstrada experimentalmente [13]. Assim, mesmo as primeiras membranas abioticamente formadas mencionadas em [7, 8] deveriam ter sido *dinâmicas e ativas* (de acordo com Lombard).

Parece que o autor, além de confundir os termos “membrana ativa” e “membrana dinâmica”, é vítima da noção popular, embora errônea, de que um desequilíbrio iônico através da membrana celular é um requisito essencial para a vida. O vazamento para íons *per se* não torna uma membrana celular *passiva* nem obrigatória mata a célula. Mesmo uma membrana com vazamento manterá fielmente todos os desequilíbrios que dizem respeito a grandes moléculas poliméricas. As células modernas são bastante robustas quanto à tensão de suas membranas. O conhecido estudo de Harold e Van Brunt de 1977 mostrou que o colapso do potencial eletroquímico transmembranar em bactérias, adicionando diversos ionóforos, não afetou a taxa de crescimento dessas bactérias, desde que estivessem em um meio rico, contendo K^+ [21]. O mesmo tratamento, no entanto, bloqueou o crescimento das bactérias em um meio rico, mas Na^+ - contendo. Estes dados mostram que a alta estanqueidade das membranas celulares modernas é crucial apenas para uma função específica, nomeadamente manter a relação K^+/Na^+ dentro da célula acima de uma e fornecendo energia para as respectivas bombas iônicas. A prevalência de K^+ sobre Na^+ dentro da célula é crucial para a síntese de proteínas e algumas outras funções celulares [8, 22]. Quando a prevalência de K^+ sobre Na^+ é cuidada, as células bacterianas podem crescer mesmo com membranas “ruins”, com vazamento.

Eu sugeriria um truncamento ou uma grande modificação da seção “**Perspectivas de um contexto histórico**”.

Resposta do autor: Agradeço ao árbitro por apontar a distinção entre membranas “dinâmicas” e “ativas”. Em uma versão anterior deste manuscrito, usei indistintamente ambos os termos para me referir ao que só deveria ser considerado como transporte ativo. Corrigi esse erro e, de acordo com os comentários deste revisor, embaralhei a seção “perspectivas de um fundo histórico”. Removi todas as menções à hipótese do “aperto” progressivo das membranas e tentei discutir apenas pontos que poderiam ser facilmente relacionados a experimentos recentes no campo das origens da vida.

Segunda rodada

Árbitro 1, Dr. Étienne Joly Traminhiga

Este manuscrito de Jonathan Lombard fornece um relato histórico muito completo e detalhado da evolução da noção de limites celulares ao longo dos 300 anos que se estendeu entre o reconhecimento inicial de que os organismos vivos eram compostos de células, em meados do século XVII, e 1972, com o advento do modelo de mosaico fluido, e a visão agora geralmente aceita de que todas as células vivas são cercadas por membranas biológicas feitas de bicamadas lipídicas. Embora eu não seja competente para julgar a precisão deste relatório histórico, e não saberia se obras equivalentes foram publicadas anteriormente, sinto que este manuscrito deve representar uma adição valiosa ao campo, e que as partes finais do manuscrito, e a discussão em particular, levantam várias questões e perspectivas interessantes.

Embora eu tenha achado que a leitura da versão inicial deste manuscrito é bastante complicada, devo dizer que estou impressionado com o quão melhorada e mais fácil ler a versão revisada se tornou, e agora estou confiante de que ela representa uma adição muito útil à literatura científica.

Resposta do autor: Agradeço ao árbitro por seus comentários anteriores, que foram muito úteis para preparar a segunda versão do manuscrito.

Árbitro 2, Eugene V. Koonin (em) Koonin (em (em)

Não tenho mais comentários e acredito que o artigo está pronto para publicação.

Resposta do autor: Agradeço ao árbitro por sua apreciação e comentários anteriores.

Árbitro 3, Armen Mulkidjanian

Eu aprecio os esforços do autor para melhorar o artigo em resposta às sugestões dos revisores. Especificamente, em resposta ao meu comentário no 5, o autor truncou dramaticamente e reescreveu a seção “Perspectivas de um contexto histórico”. Ainda assim, a versão revisada do manuscrito contém o seguinte parágrafo, que na minha opinião é obrigado a enganar o leitor: “Embora as membranas tenham sido pensadas por muito tempo como estruturas passivas que apenas permitiram que os solutos se difundissem através delas, agora sabemos que as membranas modernas são necessariamente dotadas da capacidade de transportar ativamente moléculas de acordo com suas necessidades. De acordo com essa observação, parece importante incluir um pensamento sobre mecanismos de transporte ativos em todas as obras que tentam descrever a vida nascente. Isso não significa que estruturas complicadas, como as proteínas, tinham que estar presentes desde o início da compartimentalização. Por exemplo, trabalhos recentes mostraram que os gradientes transmembranados entre as bicamadas lipídicas poderiam surgir espontaneamente em condições prebióticas [262,263]. Tem sido até argumentado que as moléculas de RNA poderiam ter agido como transportadores [264],[265]. Podemos esperar que a crescente consciência da importância do transporte ativo no início da vida em breve atraia mais atenção para este assunto fascinante”.

A partir desta redação, o leitor pode ter uma impressão de que refs. 260–263 (no manuscrito revisado) contêm evidências experimentais de uma formação espontânea de gradientes transmembrana em bicamadas lipídicas em condições prebióticas. Mas não é o caso. A palavra “gradiente” – no contexto dado – implica uma diferença transmembrana em concentrações. Tal diferença não poderia surgir espontaneamente, ou seja, sem qualquer entrada de energia livre (a segunda lei da termodinâmica). Por conseguinte, os árbitros. 260–263 não fornecem nenhuma evidência experimental para o surgimento espontâneo de gradientes transmembranados. Refs. 261 [23] e 262 [24] contêm algumas especulações interessantes, mas não há dados experimentais. O árbitro. 263 [25] contêm evidências experimentais de que um aptâmer de RNA em particular poderia facilitar a translocação passiva de moléculas de triptofano através de uma bicamada lipídica; é importante notar que, após essa translocação, um gradiente de concentração só pode decair. E, finalmente, o árbitro. 260 por Chen e Szostak descreve a formação de gradiente de prótons através de vesículas de ácidos graxos após a adição de "novas" moléculas de ácidos graxos. No entanto, Chen e Szostak enfatizaram que a

formação do gradiente de prótons foi impulsionada pela incorporação termodinamicamente favorável das novas moléculas de ácidos graxos hidrofóbicos nas membranas das vesículas. Assim, a formação do gradiente de prótons não foi espontânea. Chen e Szostak observaram a formação da diferença de pH transmembrantar sob condições muito especiais em que moléculas de arginina polar, carregadas e volumosas foram usadas como os únicos cátions no meio. Caso contrário, a diferença de pH não poderia surgir porque as membranas de ácidos graxos eram vazadas tanto para prótons quanto para cátions como K^+ ou Na^+ . As condições em que as moléculas de arginina são os únicos íons carregados positivamente no meio não são condições “prebióticas” porque não podem estar relacionadas a nenhum ambiente geológico imaginável. O artigo seminal de Chen e Szostak, de fato, mostra que:

1. 1)

uma bicamada feita de lipídios primitivos de cadeia única é vazada tanto para prótons quanto para cátions monovalentes.

2. 2)

tal bicamada representa uma barreira apenas para grandes moléculas polares carregando várias cargas.

Para resumir, o autor da revisão não fornece qualquer evidência experimental de uma formação espontânea de gradientes transmembrantantes através de bicamadas lipídicas primitivas em condições prebióticas. Devido à capacidade de pequenos íons, como K^+ , Na^+ , Cl^- , difundir livremente dentro e fora das células nascentes, o transporte ativo de tais íons, se houver, deveria ter permanecido fútil até o surgimento de fosfolipídios de duas caudas e bicamadas estanques, que aparentemente aconteceram de forma independente em bactérias e archea [27]. O transporte ativo de pequenos íons no início da vida pode de fato ser um “sujeito fascinante”, mas até agora continua a ser apenas a especulação de um autor.

A resposta do autor

Agradeço ao revisor a palestra do artigo. Eu não quis dizer que essa parte do artigo é tão controversa quanto o revisor parece achar que é. O principal objetivo da minha revisão é fornecer uma nova pesquisa sobre a história da descoberta de membranas celulares. Eu acho que este assunto é ainda mais emocionante quando é colocado no contexto de debates modernos sobre membranas precoces. Mas a questão das membranas precoces é um tópico amplo e quente e esta revisão não é o lugar para discuti-la em detalhes. Esta revisão nunca teve a intenção de fornecer dados experimentais sobre a formação de gradiente transmembrana em membranas precoces.

Embora eu não concorde com todos os argumentos do revisor (especialmente, eu não entendo por que deveria haver qualquer contradição para uma reação entre ser termodinamicamente orientado e espontâneo), não acho que este artigo seja o lugar para entrar nas especificidades das hipóteses sobre a evolução inicial das membranas. Como resultado, reformei o parágrafo problemático da seguinte forma: “Embora as membranas tenham sido pensadas por muito tempo como estruturas passivas que apenas permitiam que os solutos se difundissem através delas, agora sabemos que as

membranas modernas são necessariamente dotadas com a capacidade de controlar a entrada e saída de moléculas, dependendo de suas necessidades, até mesmo contra os gradientes químicos. De acordo com essa observação, parece importante incluir um pensamento sobre mecanismos de transporte (ativos) em todas as obras que tentam descrever a vida nascente. Isso não significa que estruturas complicadas, como as proteínas, tenham que estar presentes desde o início da compartimentalização. Por exemplo, a formação de gradiente transmembrana com base na dinâmica da membrana e moléculas alternativas de transporte (por exemplo, Moléculas de RNA) têm sido estudadas nos últimos anos [262]-[265]. Podemos esperar que a consciência da importância do transporte (ativo) para todas as células em breve atraia mais atenção para esse assunto fascinante dos pesquisadores que trabalham nas origens da vida. Espero que o revisor ache essas mudanças satisfatórias.

Pedido do revisor

Solico explicitamente que meus comentários ao manuscrito sejam publicados juntamente com a lista de referência completa [que eu forneço].

A seguir estão as referências citadas pelo revisor em seus comentários:

1. 1.

Israelachvili JN, Marcelja S, Horn RG: Princípios físicos da organização da membrana. Q Rev Biophys 1980, 13(2):121–200.

2. 2.

Mitchell P: Uma teoria geral do transporte de membrana de estudos de bactérias. Natureza 1957, 180(4577):134–136.

3. 3.

Lenard J, Singer SJ: conformação de proteínas em preparações de membranas celulares, conforme estudado pela dispersão rotatória óptica e dicroísmo circular. Proc Natl Acad Sci U S A 1966, 56(6):1828–1835.

4. 4.

Skulachev VP, Sharaf AA, Liberman EA: Condutores de prótons na cadeia respiratória e membranas artificiais. Natureza 1967, 216(5116):718–719.

5. 5.

Cantor SJ, Nicolson GL: O modelo de mosaico fluido da estrutura das membranas celulares. Ciência 1972, 175 (4023):720–731.

6. 6.

Gilbert GN, Mulkay M: Caixa de abertura de Pandora: Cambridge University Press; 1984.

7. 7.

Szathmary E: Coevolução de redes e membranas metabólicas: o cenário de sequestro progressivo. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2007, 362 (1486):1781-1787.

8. 8 (').

Mulkidjanian AY, Bychkov AY, Dibrova DV, Galperin MY, Koonin EV: Origem das primeiras células em campos terrestres, geotérmicos anóxico. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012, 109(14):E821-830.

9. 9.

Hargreaves WR, Mulvihill SJ, Deamer DW: Síntese de fosfolipídios e membranas em condições prebióticas. *Natureza* 1977, 266 (5597): 78–80.

10. 10.

Deamer DW: Os primeiros sistemas vivos: uma perspectiva bioenergética. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997, 61(2):239–261.

11. 11.

Deamer DW: Origens da vida: Quão permeáveis eram as células primitivas? *Natureza* 2008, 454 (7200): 37–38.

12. 12.

Szostak JW, Bartel DP, Luisi PL: Sintetizando a vida. *Natureza* 2001, 409(68):387-390.

13. 13.

Mansy SS, Schrum JP, Krishnamurthy M, Tobe S, Treco DA, Szostak JW: síntese de um polímero genético em uma protocélula modelo. *Natureza* 2008, 454 (7200):122–125.

14. 14.

Nakatani Y, Ribeiro N, Streiff S, Desaubry L, Ourisson G: Procurar as membranas mais primitivas: alguns problemas remanescentes. *Orig Life Evol Biosph* 2012, 42(5):497–501.

15. 15.

Streiff S, Ribeiro N, Wu Z, Gumienna-Kontecka E, Elhabiri M, Albrecht-Gary AM, Ourisson G, Nakatani Y: Membrana “primitiva” de fosfatos poliprenyl e álcoois poliprenyl. *Chem Biol* 2007, 14(3):313-319.

16. 16.

Ourisson G, Nakatani Y: A teoria terpenóide da origem da vida celular: a evolução dos terpenóides para o colesterol. *Chem Biol* 1994, 1(1):11–23.

17. 17.

Gotoh M, Sugawara A, Akiyoshi K, Matsumoto I, Ourisson G, Nakatani Y: Possível evolução molecular das biomembranas: de cadeia única a lipídios de cadeia dupla. *Chem Biodivers* 2007, 4(5):837–848.

18. 18.

Mansy SS: Transporte de membrana em células primitivas. *Cold Spring Harb Perspec Biol* 2010, 2(8):a002188.

19. 19.

Dibrova DV, Chudetsky MY, Galperin MY, Koonin EV, AY Mulkidjanian: O papel da energia no surgimento da biologia da química. *Orig Life Evol Biosph* 2012, 42(5):459–468.

20. 20 anos.

Mulkidjanian AY, Galperin MY, Koonin EV: Co-evolução de membranas primordiais e proteínas de membrana. *Tendências Biochem Sci* 2009, 34(4):206–215.

21. 21.

Harold FM, Van Brunt J: A circulação de H⁺ e K⁺ através da membrana plasmática não é obrigatória para o crescimento bacteriano. *Ciência* 1977, 197(4301):372–373.

22. 22 (').

Mulkidjanian AY, Bychkov AY, Dibrova DV, Galperin MY, Koonin EV: Abrir perguntas sobre a origem da vida em campos geotérmicos anóxicos. *Orig Life Evol Biosph* 2012, 42(5):507–516.

23. 23 (').

Lane N, Martin WF: A origem da bioenergética da membrana. *Célula* 2012, 151(7):1406–1416.

24. 24.

Vlassov A: Como a permeabilidade da membrana foi produzida em um mundo de RNA? *Orig Life Evol Biosph* 2005, 35(2): 135-3149.

25. 25.

Janas T, Yarus M: Um transportador de membrana para o triptofano composto de RNA. *RNA* 2004, 10(10):1541–1549.

26. 26.

Chen IA, Szostak JW: O crescimento de membranas pode gerar um gradiente de pH transmembranar em vesículas de ácidos graxos. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101(21): 7965–7970 (em inglês).

27. 27 anos.

Koonin EV, Martin W: Sobre a origem dos genomas e células dentro dos compartimentos inorgânicos. *Tendências Genet* 2005, 21(12):647–654.