

O Papel das G-Proteínas na Fisiopatologia das Doenças Cardiovasculares

Paulo Roberto B. Evora, Fernando Nobre

Ribeirão Preto, SP

Existem muitas e variadas dúvidas sobre os mecanismos pelos quais as células do sistema cardiovascular e outros sistemas especializados reconhecem e respondem a hormônios e neurotransmissores. As respostas a estas dúvidas fundamentais para o entendimento íntimo dos mecanismos fisiológicos e de doenças, têm motivado um enorme esforço de pesquisa nos últimos 30 anos e têm, inclusive, resultado em novas fronteiras de conhecimento que resultaram em mais do que um Prêmio Nobel. Durante os últimos 20 anos, a aplicação de métodos bioquímicos e moleculares revelaram que o início da resposta celular ocorre em receptores da membrana. Muitos tipos e subtipos destes receptores têm sido identificados definindo, inclusive, moléculas reguladoras chaves como a acetilcolina e a noradrenalina. Por exemplo, até o momento, cinco diferentes receptores colinérgicos e cinco diferentes receptores adrenérgicos foram clonados e seqüenciados. Todos estes receptores são glicoproteínas que possuem regiões com substância, identidade seqüencial e parecem fazer parte de uma grande família de receptores que partilham similaridades estruturais. A ocupação de receptores por “mensageiros primários”, como as catecolaminas e a acetilcolina, regula a ativação de um ou mais sistemas de “mensageiros secundários” efetores em células responsivas. Estes sistemas incluem canais iônicos e enzimas, como a adenilato ciclase (que forma o AMPc) e a guanilato ciclase (que forma o GMPc) ^{1,2}.

No início dos anos 70, Rodbell e col especularam sobre a presença de mais de um componente na ativação da adenilato ciclase por hormônios, após descobrir o envolvimento de um passo em que havia a participação da guanosina trifosfato (GTP). A hidrólise da GTP estimulada por hormônios, observada por Cassel e Selinger, foi uma significativa informação. A descoberta por Gilman e col de que um fator de membrana diferente de um receptor ou da adenilato ciclase levou à identificação deste elemento. Em 1987, Alfred Gilman descreveu extensivamente este compo-

nente, como uma família de proteínas, chamada de G-proteínas, que faz a ligação entre a família de receptores e as moléculas efetoras intracelulares ^{1,2}.

A presente revisão tem a finalidade de informar sobre os mecanismos íntimos das doenças cardiovasculares ao nível bioquímico, ressaltando o papel das G-proteínas. O texto foi delineado iniciando-se pela apresentação dos conceitos básicos a respeito da interação entre “mensageiros” que fazem parte da cascata de eventos que levam a respostas intracelulares de células especializadas. Nas etapas subseqüentes discutem-se as propriedades das G-proteínas e o seu papel nas vias AMPc e GMPc, ressaltando-se a sua importância em doenças cardiovasculares específicas. É evidente que esta revisão não tem a pretensão de esgotar o tema, mas sim de simplificar, tanto quanto possível, o assunto para que os leitores dos Arquivos Brasileiros de Cardiologia reciclem seus conhecimentos sobre os estudos dos mecanismos íntimos da doença cardiovascular.

Conceitos básicos

Existem mecanismos pelos quais um sinal bioquímico, gerado a partir de um hormônio ou um neurotransmissor, causa um efeito biológico dentro da célula. Estes mecanismos são genericamente denominados de “transdução do sinal” e, basicamente, podem ser divididos em dois grupos: 1) transdução através de receptores intracelulares e 2) transdução através de receptores de superfície celular ou de membrana (quadro I) ³.

Receptores intracelulares - Neste sistema a transdução do sinal bioquímico se faz através de receptores intracelulares ligados ao citosol ou ao núcleo. O complexo receptor agonista liga-se a regiões específicas do DNA, causando aumento da expressão de genes específicos. Nestes casos os efeitos dos agonistas não são imediatos, porque necessita-se de tempo para a transcrição gênica e para a subseqüente translação do mRNA. São exemplos desta transdução através de receptores intracelulares: receptores esteróides, receptores da vitamina D e do ácido retinóico e receptores da tiroxina ³.

Receptores de membrana - Nos sistemas de transdução que utilizam estes tipos de receptores o sinal é transfe-

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e Centro Especializado do Coração e Pulmão de Ribeirão Preto (CECORP)
Correspondência: Paulo Roberto B. Evora - Rua Rui Barbosa, 367 - 7º - 14015-120 - Ribeirão Preto, SP. E-mail: prbevora@keynet.com
Recebido para publicação em 10/7/98
Aceito em 18/11/98

rido para os processos intracelulares, responsáveis pela resposta das células, por um sofisticado sistema do qual participam as G-proteínas que atuam tanto no sistema AMPc, como no sistema GMPc. Estas proteínas representam uma família cujos membros incluem: 1) Gs (que estimulam a adenilato ciclase através de receptores beta adrenérgicos, além de seu efeito, recentemente descoberto, de que aumentam a condutância do cálcio no coração); 2) Gi (que parece ter múltiplas formas de inibir a adenilato ciclase através de receptores alfa2-adrenérgicos; 3) Gt (também conhecida como transducina que liga o fotorreceptor rodopsina na retina; 4) Go (que pode regular canais de cálcio; 5) Gk (que regulam os canais de potássio; 6) Gp (ainda não bem definidas, podem regular fosfolipases) (quadro II) ³⁻⁶.

Todas as G-proteínas apresentam estreita similaridade estrutural, sendo compostas por três subunidades denominadas alfa(α), beta(β) e gama(δ), das quais as alfa-subunidades são as mais características de cada G-proteína. Em geral é esta subunidade que interage com o receptor, liga-se à GTP e regula os sistema efetores. Um dos meios pelo qual se pode estudar as G-proteínas é o uso de toxinas bacterianas, principalmente a toxina da cólera e a toxina pertussis. A toxina da cólera estimula as Gs-proteínas e a toxina pertussis inativa as Gi-proteínas. Os efeitos destas toxinas têm sido testados em culturas de células, em membranas celulares e utilizando-se, até como substrato, linfócitos e monócitos de pacientes cardiopatas. Porém, todos estes métodos são muito limitados para aplicação clínica em larga escala ³⁻⁶.

A ativação de G-proteínas regulatórias associa-se com a estimulação agonista da maioria dos receptores ligados à membrana celular. Portanto, certas interações agonista-receptores facilitam a ligação de GTP a uma alfa-subunidade

da proteína e a G-proteína é ativada. Esta G-proteína dissocia-se, então, do receptor causando a redução da afinidade do receptor pelo agonista, e a alfa-subunidade é liberada (fig. 1). As distintas alfa-subunidades derivadas de diferentes G-proteínas são capazes de ativar vários processos intracelulares. A identidade desta G-proteína(s) e a sua relação com G-proteínas envolvendo a estimulação alfa1-adrenérgica da fosfolipase-C não é conhecida ³⁻⁶.

Ao contrário dos receptores intracelulares, os receptores de membrana não regulam a expressão gênica diretamente, podendo ter efeitos indiretos. Existem três classes de receptores de membrana, baseadas em seu mecanismo de transdução de sinais: 1) neurotransmissores ligados a canais iônicos de nervos e músculos (ex. receptores colinérgicos nicotínicos, receptores GABA e receptores da glicina); 2) receptores catalíticos relacionados à atividade enzimática como parte de sua estrutura, sendo que, na maior parte dos casos, a atividade enzimática é uma proteína quinase específica da tirosina (ex. receptores da insulina) e 3) receptores relacionados a mensageiros secundários intracelulares, que funcionam como verdadeiros amplificadores do sinal, pelo fato de uma molécula do receptor ativar várias moléculas responsáveis pelos efeitos intracelulares. Nestes casos muitos canais iônicos não são diretamente acoplados a seus receptores, mas sim através da ação de G-proteínas ³.

Um detalhe deve ser ressaltado, ou seja, não assumir a idéia de que o único sistema de transdução de sinal através dos receptores seja feito através de G-proteínas, o que não é verdade. Esforços cumulativos de vários laboratórios, por exemplo, têm contribuído para a elucidação de mecanismos de sinalização independentes de G-proteínas. Estes mecanismos envolvem ativações de várias moléculas de membrana sinalizadoras, seguidas de uma estimulação sequencial de várias quinases protéicas coletivamente conhecidas como MAPK (*mitogen-activated protein kinase*). A cascata sinalizadora MAPK amplifica e transmite sinais que, eventualmente, ativa várias moléculas regulatórias no citoplasma e no núcleo para iniciar processos celulares como: proliferação, diferenciação e desenvolvimento. Esta cascata não é restrita apenas à sinalização de fatores de crescimento, sabendo-se que ela está relacionada, também, a vias iniciadas por forbol esters, ionóforos e proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*).

Os hormônios, os neurotransmissores e os fatores de crescimento podem ser considerados como sinais e os receptores como detetores desses sinais. Cada componente funciona como um elemento de comunicação entre eventos extracelulares e alterações químicas dentro da célula. Moléculas consideradas "mensageiros secundários" (assim chamadas porque funcionam como elemento de ligação ou transdução do sinal originado nos receptores e o efeito celular final) são parte de uma cascata de eventos que transformam uma ligação de um neurotransmissor ou hormônio em uma resposta celular. Os dois sistemas mensageiros secundários mais amplamente estudados são o sistema da adenilato ciclase e o sistema cálcio/fosfatidilinositol ^{3,4}.

Quadro I - Mecanismos de transdução de sinal

- 1) Receptores intracelulares: receptores esteróides, receptores da vitamina D, receptores de ácido retinóico e receptores da tiroxina.
- 2) Receptores de membrana diretamente acoplados a moléculas efetoras.
 - A) Receptores ligados a canais iônicos: receptores nicotínicos colinérgicos, receptores GABA.
 - B) Receptores com atividade catalítica: receptores da insulina.
- 1) Receptores de membrana acoplados a moléculas efetoras através de mensageiros secundários.
 - A) Receptores acoplados à adenilato ciclase: receptores e adrenérgicos, glucagon e epinefrina.
 - B) Receptores acoplados ao ciclo fosfatidilinositol e ao diacilglicerol: receptores muscarínicos, receptores 1 e fatores de crescimento

Quadro II - Principais famílias das G-proteínas

- 1) Gs - estimulam a adenilato ciclase através de receptores beta adrenérgicos e aumentam a condutância do cálcio no coração.
- 2) Gi - parecem ter múltiplas formas de inibir a adenilato ciclase através de receptores alfa2-adrenérgicos.
- 3) Gt - também conhecida como transducina liga o fotorreceptor rodopsina na retina.
- 4) Go - podem regular canais de cálcio.
- 5) Gk - regulam os canais de potássio.
- 6) Gp - ainda não bem definidas, podem regular fosfolipases

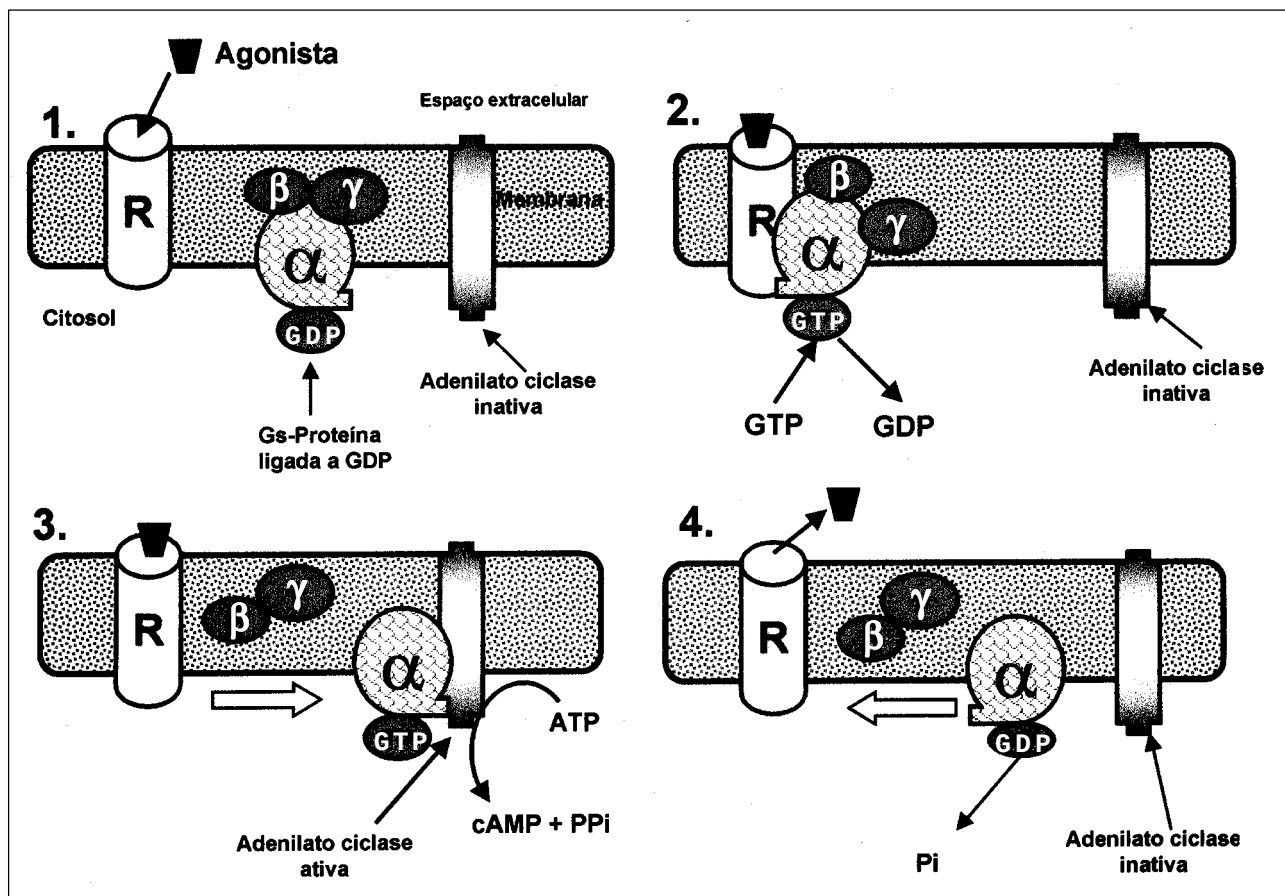


Fig. 1 - Reconhecimento e transdução do sinal relacionado ao sistema adenilato ciclase pelo acoplamento entre receptor e Gs - proteína. 1) estado de repouso: receptores desocupados não interagem com as Gs - proteínas; 2) ligação da G - proteína ao receptor ativado por um hormônio ou neurotransmissor: O receptor ocupado muda de forma e interage com a Gs - proteína que libera GDP e liga-se à GTP; 3) ativação da adenilato ciclase: a α - subunidade da Gs - proteína dissocia-se e ativa a guanilato ciclase e; 4) desativação da adenilato ciclase: a GTP na α - subunidade é hidrolizada a GDP e a adenilato ciclase é desativada, retornando ao estado de repouso. (Adaptado ³).

Sistema AMP cíclico (AMPc) - O sistema adenilato ciclase está ligado aos sinais químicos emitidos a partir de receptores beta e α_2 , cujas ações em processos intracelulares são mediadas por G-proteínas. Muitas moléculas ativas de G-proteínas são formadas a partir da ativação de um único receptor. A habilidade do hormônio ou neurotransmissor em estimular ou inibir a adenilato ciclase depende do tipo de G-proteína: se estimulatória (Gs-proteína) ou inibitória (Gi-proteína) (fig. 2 e 3) ⁸⁻¹⁰.

A próxima ligação do sistema mensageiro secundário AMPc é realizada por uma família de enzimas chamadas de proteínas quinase AMPc dependentes ou proteínas quinases A (PKA), que pela transformação de ATP em ADP promovem a fosforilação do substrato protéico responsável pelos efeitos intracelulares. Nem todas proteínas quinases respondem ao AMPc, existindo vários tipos como a proteína quinase C (PKC) independentes deste sistema ^{3,4}.

Muitos receptores respondem à ação de hormônios e neurotransmissores pela ativação de uma fosfodiesterase de membrana chamada fosfolipase C, que também é ativada a partir da transdução do sinal por G-proteínas. A ativação da fosfolipase C libera dois fragmentos: o 1,4,5 fosfatidilinositol trifosfato (IP3) a partir da forma difosfato (PIP2) e o diacilglicerol (DAG). Estas duas moléculas têm ações

sinérgicas com as moléculas mensageiras secundárias. O IP3 liga-se a receptores do retículo endoplasmático, causando uma rápida liberação de cálcio das reservas intracelulares, permitindo a formação do complexo cálcio-calmodulina que é um mediador de variadas ações enzimáticas. O IP3 é um sinal químico de curta vida, sendo rapidamente desfosforilado em PIP2 e PIP que são inativos como mensageiros secundários. Já o DAG parece atuar aumentando a afinidade da PKC pelo cálcio. Os dois mensageiros secundários (IP3 e DAG) atuam sinergicamente para causar a fosforilação de proteínas necessária para os efeitos intracelulares ^{3,4}.

Sistema GMP cíclico (GMPc) - O AMPc e o cálcio são os dois mensageiros secundários mais espalhados. Porém as células possuem sistemas de sinalização mais especializados, incluindo o sistema da guanilato ciclase (GMPc) e o óxido nítrico (NO). Em muitos aspectos o GMPc é semelhante ao sistema AMPc incluindo receptores de membrana e G-proteínas. Entretanto, a guanilato ciclase difere da adenilato ciclase, pois pode ser parte integral do receptor, sendo portanto semelhante às proteínas quinases tirosíno-específicas. Muitos tecidos contêm uma forma de guanilato ciclase citosólica, não acoplada com receptores de membra-

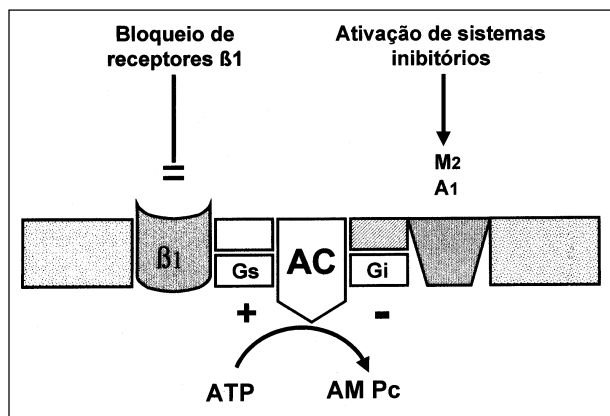


Fig. 2 - Esquema simplificado do sistema adenilato ciclase incluindo sistemas receptores estimulatórios e inibitórios. A adenilato ciclase (AC) é ativada por receptores $\beta 1$ - adrenérgicos ($\beta 1$ - AC) via G - proteínas estimulatórias (Gs) e inibida por sistemas receptores inibitórios (M2 - receptores muscarínicos M2; A1 - receptores A1 da adenosina) via G - proteínas inibitórias. A ativação da adenilato ciclase pode ser prevenida por $\beta 1$ -bloqueadores ou, alternativamente, pela ativação dos sistemas receptores inibitórios. (Adaptado ¹⁰).

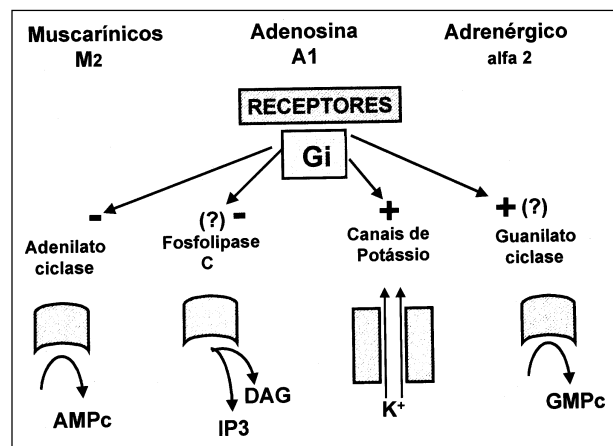


Fig. 3 - G - proteínas inibitórias e sua relação com variados tipos de receptores e respostas celulares. Gi - G - proteína inibitória; DAG - diacilglicerol; IP3 - inositol trifosfato.

na. Em contraste com o AMPc, que afeta uma ampla variedade de processos, o GMPc funciona como mensageiro especializado, sendo relacionado com o relaxamento da musculatura lisa, agregação plaquetária e com o sistema visual ^{3,4}.

O sistema GMPc passou a ser intensamente estudado na fisiopatologia das doenças cardiovasculares por ser o sistema efetor final da ação do NO e pela importância do reconhecimento da disfunção endotelial, como causa ou consequência destas doenças. A cascata de eventos que participa da produção e liberação do NO é, em essência, semelhante à cascata de eventos do sistema AMPc. Também tem a participação das G-proteínas ligando as informações acopladas em receptores da membrana da célula endotelial à via fosfatidilinositol que libera o cálcio de suas reservas endoplasmáticas. Após a estimulação agonista da célula endotelial, via receptor/G-proteína, a PIP2 fosfodiesterase atua sobre o fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) para gerar diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (IP3). O IP3 mobili-

za, então o cálcio intracelular enquanto a proteína quinase C (PKC) ativada pelo DAG promove o influxo do cálcio extracelular. Esta hipótese é consistente com o achado de que em células endoteliais em cultura, a bradicinina ou o ADP estimula a fosfolipase C a liberar IP3. Além disso, fosfolipase C exógena pode causar relaxamento dependente do endotélio, enquanto as fosfolipases B e D não o fazem. Acresça-se, também, que a vasodilatação dependente do endotélio é potenciada pela inibição da diacilglicerol-quinase. A enzima que inicia a conversão da L-arginina em NO pelo endotélio, denominada óxido nítrico sintetase, é ativada pelo aumento deste cálcio citosólico, o qual é mediado pela calmodulina.

G-proteínas, endotélio e óxido nítrico - A liberação do EDRF/NO ou outros EDRFs, uma vez que se postula a existência de mais de um fator endotelial, pode ocorrer através de diferentes vias envolvendo G-proteínas e mecanismos independentes. A Gi-proteína é responsável pela mediação de efeitos inibitórios de receptores na via da adenilato ciclase. Pouco se conhece em relação ao sinal de transdução envolvendo a síntese ou liberação do EDRF/NO. Um estágio precoce na maioria das respostas mediadas por receptores é a ativação de G-proteínas na membrana celular, a qual pode iniciar a modulação de uma variedade de eventos intracelulares (fig. 4) ⁸.

O papel das G-proteínas na fisiopatologia do vaso-espasmo após isquemia global e reperfusão, também é obscuro. A sua participação foi comprovada estudando-se comparativamente os relaxamentos vasculares causados pelo fluoreto de sódio, o qual foi capaz de produzir respostas bifásicas em coronárias humanas, bovinas e de porcos, causando, especificamente, um relaxamento dependente do endotélio e uma contração independente do endotélio. O fluoreto parece liberar um EDRF com características semelhantes ao NO. O fluoreto parece, também, liberar um prostanóide que é sensível à indometacina e pode ser similar ao descrito. O fluoreto age estimulando G-proteínas para causar a liberação destes EDRFs. A disfunção destas G-proteínas no endotélio tem sido, também, postulada como responsáveis pela disfunção endotelial em condições com regeneração da célula endotelial após lesão, aterosclerose e vasoespasmo coronário (fig. 5) ^{6,8}.

G-proteínas, sistema AMP cíclico e doenças cardiovasculares

Isquemia miocárdica - Várias alterações parecem ser responsáveis pela perda da função da adenilato ciclase no miocárdio isquêmico. Existe uma fase reversível deste processo, caracterizada pelo desacoplamento de receptores das G-proteínas, e uma suposta alteração alostérica da subunidade catalítica, causando um aumento do cálcio em um compartimento próximo do local da atividade enzimática. A alteração irreversível da função da adenilato ciclase, observada em isquemia que permanece por mais de 30min (isquemia global normotérmica), é assumida como causada

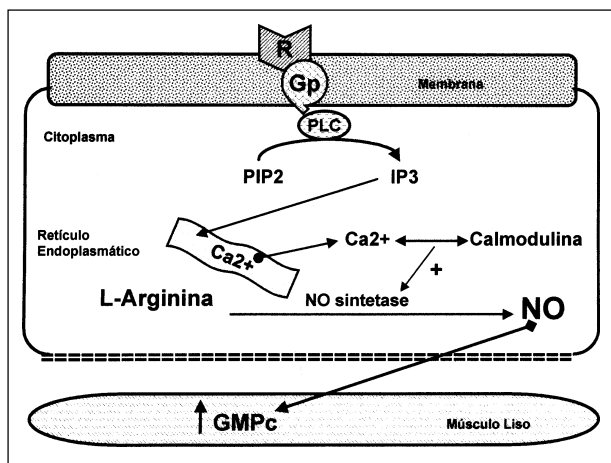


Fig. 4 - Via de liberação do óxido nítrico. R- receptor; Gp- G-proteína; PLC- fosfolipase C; PIP2- inositol difosfato; IP3- inositol trifosfato; NO- óxido nítrico.

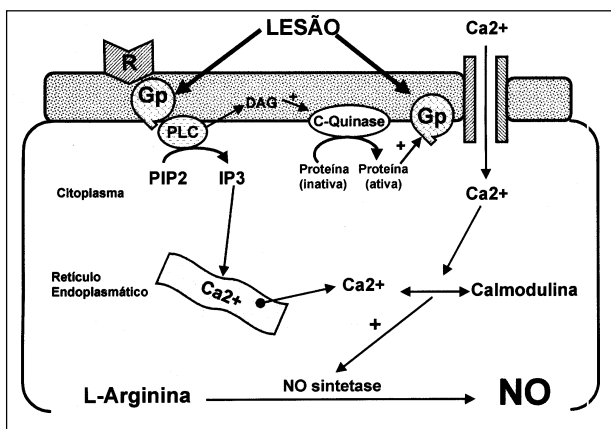


Fig. 5 - Na lesão de isquemia/reperfusão ocorre um comprometimento da liberação de óxido nítrico por defeito da transdução de sinal através membrana, sendo que a célula endotelial mantém a capacidade de produzir e liberar óxido nítrico. Este é um padrão de resposta a lesão em todas as doenças cardiovasculares. R- receptor; Gp- G - proteína; PLC- fosfolipase C; C-quinase- proteína C - quinase; PIP2- inositol difosfato; IP3- inositol trifosfato; NO- óxido nítrico). (Adaptado de Evora ^{5,6}).

principalmente, se não exclusivamente, pela ação de radicais livres.

Vários estudos têm descrito um aumento, ao invés de uma diminuição, na densidade de receptores beta-adrenérgicos na membrana plasmática de corações isquêmicos. Devido à perda de fosfatos de alta energia na isquemia miocárdica aguda, o acoplamento de receptores beta e a transdução do sinal estão completamente abolidos, ocorrendo uma preponderância de fenômenos externos em relação aos internos, levando a um aumento de beta-receptores na superfície celular. No primeiro passo fisiopatológico da isquemia miocárdica, ou seja durante a dessensibilização precoce, o desacoplamento dos receptores das Gs-proteínas, está completamente abolido. Mesmo a administração exógena de catecolaminas em corações isquêmicos não pode compensar este efeito ^{9,10}.

Como já mencionado, a adenilato ciclase é regulada tanto por vias estimulatórias como inibitórias. Os beta-adrenérgicos ativam as Gs-proteínas aumentando a atividade

de enzimática, ao passo que a ativação de receptores muscarínicos M2 e da adenosina A1 levam à ativação de Gi-proteínas que diminuem a atividade enzimática. Esta inibição da adenilato ciclase reduz tanto a sua atividade basal como a sua atividade estimulada. Logo, um aumento tônico da ativação inibitória de Gi-proteínas resulta em uma diminuição da resposta da adenilato ciclase a hormônios estimulantes. A perda da inibição tônica, em contraste, leva a um aumento de responsividade ou sensibilidade do sistema adenilato ciclase. Este desequilíbrio funcional das G-proteínas tem sido observado em vários modelos de isquemia miocárdica aguda. Enquanto os níveis de Gs-proteínas permanecem intactos durante um longo período após o início do insulto isquêmico, os níveis de Gi-proteínas perdem rapidamente sua atividade funcional. O mecanismo molecular deste comprometimento funcional necessita de mais estudos para ser elucidado. Com o prolongamento da isquemia, detectou-se um decréscimo geral da atividade da adenilato ciclase em vários modelos experimentais de infarto agudo do miocárdio (IAM). Estudos recentes, detalhando a evolução da isquemia aguda, têm demonstrado uma muito rápida mas transitória atividade da adenilato ciclase independente dos receptores beta-adrenérgicos e G-proteínas podendo estar associada com ativação da proteína quinase ¹¹.

Uma das maiores complicações da isquemia miocárdica é a ocorrência de taquiarritmias malignas, que podem ser parcialmente explicadas por um aumento transitório da sensibilidade celular à estimulação da adenilato ciclase por catecolaminas. Conseqüentemente, a prevenção da estimulação desta enzima por agentes betabloqueadores é eficiente na redução da incidência dessas arritmias. A ativação da guanilato ciclase, portanto, pode também ser prevenida por mecanismos endógenos através da ativação de Gi-proteínas mediada por receptores M3 muscarínicos receptores A1 da adenosina e, talvez, por receptores alfa2-adrenérgicos. A ativação das Gi-proteínas na isquemia miocárdica pode ter algumas vantagens, uma vez que elas não somente representam uma inibição da adenilato ciclase, mas também promovem hiperpolarização nos átrios e no sistema de condução. De acordo com estas considerações, observam-se crescentes evidências de que a ativação do sistema colinérgico pode prevenir taquiarritmias induzidas pela isquemia. Entretanto, os potenciais benefícios do estímulo colinérgico podem estar atenuados porque a inibição da liberação pré-sináptica da noradrenalina, mediada por receptores muscarínicos, está reduzida durante a isquemia. Além disso, a resposta dos miócitos isquêmicos aos estímulos colinérgicos mediada por receptores M2 muscarínicos é reversivelmente reduzida durante curtos períodos de isquemia, o que pode levar à redução da inibição da adenilato ciclase e, assim, contribuir para os mecanismos das arritmias induzidas pela isquemia. A prevenção das alterações induzidas pela isquemia na transdução do sinal mediada pelas Gi-proteínas e/ou ativação seletiva de receptores M2 muscarínicos, poderia ser, com limitações, uma alternativa farmacológica no tratamento da isquemia miocárdica aguda ^{10,11}.

A ocorrência de arritmias malignas e a extensão da área infartada seguidas de insuficiência cardíaca (IC) determinam a evolução clínica do IAM, ficando claro que a atividade do sistema adrenérgico tem um importante papel nesta evolução, pois a isquemia miocárdica aguda, em vários níveis leva a uma inadequada ativação do sistema adrenérgico com um rápido aumento da atividade beta-adrenérgica e comprometimento funcional das Gi-proteínas. Acresça-se a estes dois mecanismos o fato de que, a sensibilização transitória da adenilato ciclase na isquemia aguda do miocárdio, ocorre por uma modificação da enzima que somente pode ser completamente bloqueada por uma inibição da proteína quinase C. Assim, além das alterações funcionais de receptores e Gi-proteínas, a isquemia aguda do miocárdio leva a uma rápida ativação da proteína quinase C por mecanismos ainda completamente indefinidos. Esta ativação pode ativar diretamente canais iônicos e a troca Na⁺/H⁺ e influenciar na evolução do IAM.

Para completar a revisão específica sobre a isquemia miocárdica, alguma coisa sobre remodelamento deve ser acrescentada. Grandes infartos transmuralis levam a um comprometimento do remodelamento cardíaco, aumentando o risco de insuficiência cardíaca congestiva (ICC). A angiotensina II, endotelina e receptores alfa1-agonistas estão implicados no desenvolvimento da hipertrofia miocárdica, fibrose intersticial e IC após IAM. Pelo fato desses agonistas estarem acoplados e ativarem uma Gqalfa-proteína no coração, é possível que esta esteja envolvida nos mecanismos do remodelamento e IC após IAM. Estudos com infarto do miocárdio experimental em ratos mostram uma elevação da concentração de Gqalfa-proteína no miocárdio normal, na borda da área infartada e em tecidos cicatriciais após oito semanas de evolução com moderada IC. Observou-se, também, um aparente aumento na expressão da fosfolipase C e significativo aumento da atividade do ciclo fosfatidilinositol nas bordas do infarto e nos tecidos cicatriciais. Estas observações indicam que a via Gqalfa/PLC-beta possa ter um importante papel no remodelamento da cicatriz, bem como na hipertrofia cardíaca e fibrose do tecido sobrevivente após IAM, sugerindo que esta via possa ser um novo alvo para alterar o processo de remodelamento ¹².

Hipertensão arterial - O comprometimento da responsividade beta-adrenérgica pode desempenhar um importante papel no desenvolvimento e/ou manutenção da hipertensão. Este defeito tem sido associado com alterações da interação receptor/G-proteína. Em consequência, um comprometimento funcional do tono vasodilatador pode ser importante na patogênese e/ou manutenção da resistência vascular periférica elevada na hipertensão ¹³.

Estudos de pacientes hipertensos têm demonstrado um comprometimento da vasodilatação beta-adrenérgica paralela a uma redução da atividade da adenilato ciclase em linfócitos estimulados por agentes beta-adrenérgicos. Este comprometimento pode estar relacionado a um defeito da função das G-proteínas como sugerem estudos realizados com linfócitos de pacientes hipertensos jovens ¹⁴.

Ainda utilizando linfócitos humanos, estudos em hipertensos e idosos evidenciam o comprometimento da função das G-proteínas, embora haja aspectos obscuros e mesmo controversos. Linfócitos de pacientes hipertensos e pacientes idosos, mostraram uma comparável redução da atividade da adenilato ciclase estimulada pelo isoproterenol. No entanto, a atividade da adenilato ciclase estimulada pelo complexo alumínio/fluoreto (que estimula diretamente as G-proteínas) foi reduzida apenas nos pacientes hipertensos, efeito este inversamente proporcional aos valores da pressão arterial média. Em pacientes hipertensos jovens a titulação de Gs-proteínas com toxina da cólera mostrou-se significativamente aumentada, ao passo que as Gi-proteínas imunodetectadas não se alteraram. Já em pacientes idosos as Gs-proteínas tituladas com a toxina da cólera não se alteraram, entretanto, as Gi-proteínas tituladas pela toxina pertussis mostraram-se significativamente aumentadas. Em contraste a este último achado, as Gi-proteínas tituladas por métodos imunológicos mostraram-se inalteradas ¹⁴.

Tem-se demonstrado que as G-proteínas têm uma importante influência na função plaquetária, incluindo níveis anormais de atividade em humanos portadores de diabetes não dependentes da insulina. Estudo recente da atividade da adenilato ciclase em preparações de membranas de plaquetas, medindo-se os níveis das subunidades de G-proteínas por métodos imunológicos (Gs alfa, Gi alfa 2 e beta), não revelou nenhuma alteração de seus valores. Estes dados estão em oposição com a teoria que um defeito comum em G-proteínas pudesse explicar a associação entre hipertensão e diabetes não dependente da insulina ¹⁵.

Estudo em ratos demonstram um papel da expressão alterada de G-proteínas na regulação da atividade da adenilato ciclase na força de contração em cardiomiopatia de ratos SHR. Esse estudo mostrou que a quantidade de G(i)alfa-proteína e não somente substratos da toxina pertussis, estavam aumentados nas membranas de corações hipertróficos de ratos SHR sem IC. Os resultados obtidos nesse estudo, utilizando-se a titulação com toxina pertussis, dependeram fortemente da qualidade do substrato da G(i)alfa. O aumento da expressão desta subunidade da Gi-proteína e a diminuição do número de receptores beta-adrenérgicos evidencia um possível papel destas proteínas de ligação na regulação da atividade da adenilato ciclase e na força de contração em ratos SHR. Assim, um aumento da expressão da Gi-alfa pode ter um papel fisiopatológico, não só da IC terminal, mas também na cardiomiopatia hipertrófica ¹⁶.

Sabe-se que a hipertrofia cardíaca induzida pela hipertensão é um preditor do desenvolvimento de IC. Não se conhece nenhum marcador celular que contribua para o progresso da hipertrofia compensada para a insuficiência. Na IC, variados defeitos da transdução de sinal levam a uma dessensibilização da adenilato ciclase como a comprovada "regulação para menos" (*downregulation*) dos receptores beta-adrenérgicos, aumento da expressão de Gi-proteína, e desacoplamento de receptores beta-adrenérgicos, provavelmente por um aumento da atividade quinase receptora.

A maioria dos estudos de doença cardíaca hipertensiva tem sido realizada usando modelos experimentais em ratos. Os mecanismos são freqüentemente diferentes em modelos para hipertensão adquirida ou genética, mas alterações de Gi-proteínas e *downregulation* de receptores beta-adrenérgicos têm sido observadas com freqüência. Esses estudos sugerem que os mecanismos subjacentes para a dessensibilização enzimática, devam ser mais relacionados com a atividade simpática como causa da hipertensão do que alterações genéticas da proteínas transdutoras de sinal. Até o momento, os dados disponíveis sugerem que uma dessensibilização beta-adrenérgica possa representar um mecanismo que contribua para a progressão de hipertrofia para insuficiência. A questão chave permanece se aqueles pacientes hipertensos que desenvolvem IC são mais predispostos à dessensibilização beta-adrenérgica ou se uma intervenção precoce na redução da atividade simpática é mais efetiva na prevenção ou retardo da transição de hipertrofia compensada para insuficiência franca¹⁷.

Pela análise dos conceitos revisados acima, nota-se que o papel das G-proteínas, quando se considera o sistema AMP cíclico, é ainda bastante confuso, com aspectos extremamente controversos, principalmente quando se analisam dados referentes a hipertensos humanos. Embora haja evidências da disfunção das G-proteínas, os resultados são divergentes, revelando a inexistência de métodos adequados para o estudos nesta área.

Diabete melito - No fígado, o hormônio glucagon aumenta a concentração do AMPc pela ativação da adenilato ciclase, através de um processo mediado pelas Gs-proteínas. Esse efeito do glucagon é antagonizado pela insulina, através de mecanismos moleculares não bem conhecidos. Entretanto, receptores da insulina exibem atividade da tirosino quinase e parece interagir com G-proteínas, talvez pela fosforilação destas. No diabete tipo I, os níveis de insulina circulante são anormalmente baixos, dando chance para o surgimento de variadas alterações metabólicas, bem como a uma variedade de complicações como distúrbios iônicos, neuropatias, alterações respiratórias e cardiovasculares, predispondo à infecção. Experimentalmente tem-se demonstrado que a diabete tipo I causa uma perda da expressão da Gi-proteína. Como a Gi pode acoplar receptores ligados a canais de potássio e exercer um efeito inibitório sobre a adenilato ciclase, é provável que esta proteína de transdução possa estar relacionada com as alterações da diabete tipo I.

A integração de informações entre as vias mediadas pela tirosino quinase e G-proteínas é necessária para a ação da insulina, mas permanece pouco conhecida. Experimentos com ratos transgênicos mostra uma participação crítica da Gialfa2-proteína na ação da insulina. A deficiência desta G-proteína em tecido adiposo e hepático está relacionada com hiperinsulinemia, comprometimento da tolerância à glicose e resistência à insulina *in vivo*. A resistência à insulina afeta a atividade de transporte da glicose, a contraregulação da lipólise e a ativação da glicogênio sintetase. A deficiência de Gialfa2-proteína influi na atividade da proteína-tirosina

fosfatase e atenua a fosforilação da tirosina estimulada pela insulina. A deficiência desta Gi-proteína cria um modelo de resistência à insulina característica do diabete melito não dependente da insulina, implicando a Gialfa2-proteína como um regulador positivo da ação da insulina¹⁹.

A consequência das alterações metabólicas da diabete é um aumento da liberação de substâncias vasoativas e agonistas proliferativos que promovem hiperfiltração glomerular, hipertrofia, aumento da deposição matricial, e, finalmente, glomerulosclerose. Muitas destas ações autócrinas e parácrinas estão ligadas ao acoplamento receptor/G-proteína com aumento da tendência ao aparecimento de nefropatia diabética^{20,21}.

A expressão da atividade da tirosino-quinase do receptor da insulina representa um passo essencial da transdução do sinal da insulina através da membrana de células alvo. A transdução do sinal após o nível da tirosino-quinase ainda não é conhecida em detalhes. Os possíveis mecanismos envolvem fosforilação de substratos protéicos, ativação de serino-quinases, interação com G-proteínas, fosfolipases e fosfatidil quinases. Estudos em múltiplos modelos de células insulino resistentes demonstram que um comprometimento da resposta da tirosino-quinase ao estímulo da insulina é um potencial mecanismo da resistência à insulina. Um comprometimento do efeito da insulina sobre a tirosino-quinase nos maiores tecidos alvos da insulina, em particular o músculo esquelético, foi demonstrado em pacientes diabéticos tipo II (não dependentes da insulina). Não existe nenhuma evidência de que a alteração funcional da tirosino-quinase na musculatura esquelética seja um defeito primário, entretanto, é bastante provável que uma anormalidade da transdução do sinal do receptor da insulina por G-proteínas contribua, significativamente para a patogênese da condição de resistência à insulina no diabete tipo II²².

Em relação às alterações vasculares em diabéticos, os modelos experimentais não têm sido felizes em mostrar dados definitivos, não se podendo afirmar que estas alterações funcionais estejam relacionadas com receptores alfa-adrenérgicos e suas G-proteínas de acoplamento. Experimentos utilizando métodos imunológicos não revelaram diferenças entre Gi2,3alfa-proteínas e Gq/11alfa-proteínas entre controles, aorta e artéria caudal de ratos diabéticos. Logo, só as alterações no número de alfa1-receptores ou o nível de G-proteínas não podem explicar o aumento da resposta contrátil de artérias diabéticas pela ação da noradrenalina. Embora não haja uma definitiva comprovação, talvez por limitações metodológicas, é de se esperar que um aumento da atividade de G-proteínas acopladas a receptores alfa1 e ao ciclo fosfatidilinositol/fosfolipase C possam se relacionar com uma resposta aumentada induzida por estimulação alfa1-adrenérgica em artérias diabéticas²³.

Dislipidemia - A regulação de transporte intracelular do colesterol é mediada não somente pela concentração extracelular de lipoproteínas e respostas transcricionais a alterações no conteúdo intracelular de colesterol livre. Além destes fatores, a modulação do transporte de coles-

terol é também regulada por produtos sintetizados após a ativação de vias de transdução de sinal originadas na superfície celular. Estes fatores têm sido identificados, demonstrando-se a importância da geração de mensageiros secundários, mais notavelmente, eicosanóides e AMP cíclico, mensageiros estes que influenciam efeitos específicos pró-aterogênese ²⁴.

Aterosclerose - Existem, com certeza, mecanismos relacionados com a atividade da adenilato ciclase na aterosclerose, porém, estes mecanismos são desconhecidos. Um interessante estudo em humanos, utilizando membranas de eritrócitos de pacientes com doença isquêmica cardíaca crônica, relaciona alterações das Gs e Gi-proteínas com a aterosclerose coronária. Pacientes que tiveram diminuição de Gs-proteínas possuíam Gi-proteínas aproximadamente normais, e aqueles que apresentavam aumento das Gi não mostraram alterações importantes das Gs-proteínas. Pacientes com Gi-proteínas aumentadas (Gs normal) apresentavam uma deterioração mais grave de suas artérias coronárias, do que os pacientes com diminuição das Gs-proteínas (Gi normal). Como estes dois grupos não apresentaram diferenças significantes nos níveis de lipídios séricos, hormônios, tratamento medicamentoso, e dados da história clínica, parece evidente que existe uma participação de G-proteínas, principalmente uma disfunção de Gi-proteínas na aterosclerose. Acrescente-se, como mencionado, que a geração de mensageiros secundários, mais notavelmente, eicosanóides e AMP cíclico, podem influenciar efeitos específicos pró-aterogênese ²⁵.

Insuficiência cardíaca - A ICC associa-se com hiporresponsividade inotrópica e cronotrópica à estimulação adrenérgica, com diminuição das Gsalfa-proteínas, aumento das Gialfa-proteínas e uma diminuição da atividade da adenilato ciclase ²⁶.

Na IC observa-se uma forte ativação simpática que causa uma diminuição da atividade beta-adrenérgica nestas condições. Em relação aos receptores de membrana ocorre uma regulação para baixo (*downregulation*) de receptores beta1 e desacoplamento dos receptores beta2. Ao contrário da "regulação para cima" (*upregulation*) das Gi-proteínas não se observam alterações dos níveis de Gsalfa-proteínas e das subunidades betagamas. O aumento das Gi-proteínas, por si só pode suprimir a atividade da adenilato ciclase mesmo na ausência da *downregulation* dos receptores beta-adrenérgicos. Uma vez que a hipertrofia cardíaca é um forte preditor de IC, estas observações indicam que a dessensitização da adenilato ciclase pelas Gi-proteínas possa ser um mecanismo fisiopatológico relevante na progressão da hipertrofia cardíaca compensada para IC ²⁷. Acrescente-se que alterações semelhantes podem ser evidenciadas com o aumento da idade ²⁸.

Grandes esforços têm sido devotados para se compreender como condições fisiopatológicas, como a isquemia e a ICC e os métodos terapêuticos usados para tratar estas condições, alteram ou regulam os sistemas dos receptores.

Está bastante claro que o problema não está restrito ao número de receptores, mas também com as interações entre estes e as G-proteínas. Recentes evidências sugerem que a ICC em humanos está associada com a diminuição de beta-receptores e um aumento da quantidade de Gi-proteínas. Estas alterações podem trazer importantes conhecimentos para o desenvolvimento de novos métodos terapêuticos. Por exemplo, o tratamento com um betabloqueador com atividade mimética intrínseca (metoprolol), restaura os níveis reduzidos da densidade de beta-receptores. Estudos utilizando biópsias de portadores de ICC mostraram que a utilização do metoprolol, ao contrário do tratamento tradicional com digital, diuréticos e inibidores da enzima conversora da angiotensina, levaram a uma significativa diminuição de 74% das Gi-proteínas, além de um aumento seletivo de beta1-receptores ²⁹. Nesses estudos, portanto, pode-se concluir que os possíveis efeitos benéficos dos betabloqueadores como o metoprolol, e, mais recentemente o carvedilol, possam estar relacionados com um parcial reversão da *upregulation* das Gi-proteínas e da *downregulation* dos beta-receptores.

G-proteínas, sistema GMP cíclico e doenças cardiovasculares

O sistema GMPc passou a ser intensamente estudado a partir da conclusão experimental de que o EDRF era o NO, e que este, ao se difundir para a musculatura lisa vascular causava vasodilatação por estímulo da guanilato ciclase. Estudos posteriores estabeleceram uma ligação direta da disfunção endotelial com a fisiopatologia das doenças cardiovasculares.

Isquemia miocárdica - Após isquemia miocárdica global seguida de reperfusão, vasos coronários perdem a habilidade de expressar vasodilatação dependente do endotélio mediadas por receptores, ao passo que o relaxamento dependente do endotélio mediado pelo cálcio ionóforo A23187, que não depende de estimulação de receptores, encontra-se inalterada. Em adição, a vasodilatação dependente do endotélio produzida pela fosfolipase C exógena é, também, normal, mas o relaxamento produzido pelo fluoreto de sódio, o qual atua através de G-proteína(s) sensível à toxina pertussis, encontra-se comprometido. Estes dados indicam que o comprometimento da produção de EDRF/NO mediada por receptores após a lesão de reperfusão possa ser devida a uma disfunção de G-proteínas que liga os receptores da célula endotelial à via da síntese de EDRF/NO. Quando se estuda a disfunção endotelial em cardiovascularopatias, sente-se a presença de um elo comum, semelhante ao descrito nos experimentos com o modelo de isquemia global seguido de reperfusão. À semelhança do que se observou nesse modelo, nota-se o padrão de comprometimento funcional de receptores e do sistema de transdução do sinal representado pelas G-proteínas, ao passo que a capacidade da célula de produzir EDRF/NO permanece inalterada, bem como a função da musculatura

lisa vascular. Este padrão de comprometimento é comum à hipertensão arterial (HA), dislipidemia, aterosclerose, diabetes melito, fenômeno de Raynaud, IC, IAM, etc^{5,6,8}.

Hipertensão arterial- O NO estimula a ADP-ribosilação de proteínas citosólicas e de membrana. A ADP-ribosiltransferase modifica várias proteínas intracelulares e de membrana, incluindo as G-proteínas. Com a ADP-ribosilação das G-proteínas na musculatura lisa vascular, ocorre uma ativação da adenilato ciclase e diminuição da fosfolipase C, levando a vasodilatação. Na HA a redução crônica da atividade GMPc, com diminuição da liberação de NO, levaria a uma diminuição da ativação das G-proteínas, com aumento da sensibilidade a agonistas vasoconstritores³⁰.

Diabete melito - A reatividade vascular em modelos diabéticos está comprometida, com maior possibilidade de doença aterosclerótica difusa. A liberação de NO é diminuída, permitindo inferir, como em outros modelos de doença cardiovascular, que há um comprometimento da transdução do sinal ao nível do acoplamento receptor/G-proteína, no sistema GMPc, como ocorre no sistema AMPc. A glicose estimula, tanto *in vitro* como *in vivo*, as atividades secretórias e mitogênicas das células pancreáticas betas produtoras de insulina, mas os mecanismos desta ação são pouco compreendidos. Sabe-se que a glicose estimula a replicação, secreção de insulina e a formação de AMPc. Estes efeitos podem ser mimetizados por agonistas do AMPc dependentes da proteína quinase, mas não pelo GMPc. O pré-tratamento de ilhotas pancreáticas com toxina pertussis, que regula a transdução do sinal através de G-proteínas ligadas ao sistema GMPc, inibe completamente o efeito estimulatório da glicose sobre a mitogênese das células pancreáticas beta, mas não inibe a secreção de insulina. Assim, é possível concluir-se que a ativação da proteína quinase C ou a síntese de AMPc é suficiente para aumentar a mitogênese e a secreção de insulina, ao passo que o GMPc não afeta estes processos. Existem evidências experimentais de que o AMPc não participa da mitogenicidade e da ação secretória da glicose. Por outro lado, parece que a transdução do sinal através de G-proteínas e da ativação da proteína quinase C é necessária para a mensagem induzida pelo açúcar no que diz respeito à mitogenicidade, mas não para a atividade secretória das células pancreáticas tipo beta³¹.

Em modelo para diabete tipo I (dependente de insulina), produzido pela estreptozotocina em ratos, comprovou-se a alteração dos mecanismos de transdução do sinal na retina, desde os estágios mais precoces. Os dados experimentais são bastante sugestivos da deterioração das G-proteínas, principalmente das Gi (sensível à toxina pertussis), na retina diabética³².

É bastante conhecida a alteração da reatividade vascular e a predisposição à aterosclerose relacionadas com a deficiente produção de NO no diabete. Como este mediador exerce seus efeitos através do GMPc, fica clara a participação na patogenia desta doença, das G-proteínas envolvidas neste sistema.

Dislipidemia - Explicações para um comprometimento de relaxamentos vasculares dependentes do endotélio na hipercolesterolemia inclui alterações na transdução do sinal, deficiências no substrato (arginina) para a enzima NO sintetase, alterações desta enzima ou um de seus co-fatores, e excesso de destruição de NO pelo ânion superóxido.

O ácido lisofosfatídico é um fosfolípido natural que afeta as vias de sinalização intracelular em situações de alterações da parede vascular que podem preceder o aparecimento da aterosclerose. Este fosfolípido induz o aumento do cálcio citosólico na presença ou ausência de cálcio extracelular, estimula marcadamente a troca Na⁺/H⁺, também, estimulando a proteína quinase mitógeno-ativada. Estes efeitos são bloqueados pela toxina pertussis, demonstrando que os efeitos do ácido lisofosfatídico nas vias de transdução do sinal e na ação sobre fatores de crescimento são mediados por G-proteínas³³.

Outro dado relevante reside no fato de que a hipercolesterolemia associa-se a uma resposta reduzida da guanilato ciclase pela ação de nitrovasodilatadores na musculatura lisa³⁴.

Aterosclerose - Na aterosclerose e condições associadas a importância de um defeito na transdução endotelial do sinal é demonstrada pelo comprometimento dos relaxamentos dependentes do endotélio. Estes relaxamentos sensíveis à toxina pertussis estão, proeminentemente alterados em aterosclerose experimental em porcos. A expressão de Gi-proteínas encontra-se reduzida na aterosclerose e condições associadas em artérias coronárias humanas. Portanto, a disfunção de Gi-proteínas (sensíveis à toxina pertussis) pode contribuir para o comprometimento de relaxamentos dependentes do endotélio na aterosclerose³⁵.

A toxina pertussis promove, seletivamente, a ADP-ribosilação de certas G-proteínas (principalmente Gi). Ainda no modelo que utiliza coronárias de porco, esta toxina inibe a liberação de NO induzida por certos agonistas (serotonina, agonista alfa2-adrenérgicos, leucotrienos, trombina), mas não todos (bradicinina, ADP), vasodilatadores dependentes do endotélio, sugerindo que ambas Gi e Gq-proteínas podem estar acopladas a receptores ativados para aumentar a concentração de cálcio citosólico necessário para a estimulação da NO sintetase. Em artérias com endotélio regenerado e em cultura de células endoteliais, a liberação de NO induzida por mecanismos sensíveis à toxina pertussis, está severamente reduzida ou ausente, enquanto a resposta a outros agonistas é normal. Com base nestes experimentos é possível considerar que uma função anormal, mais do que uma diminuição, de Gi-proteínas, ou uma redução da sensibilidade do receptor de membrana, possa predispor a parede do vaso a vasoespasmos e iniciação do processo aterosclerótico³⁶.

A lisofosfatidilcolina pode ativar a proteína quinase C em vasos intactos, levando a um aumento da produção do radical superóxido. Esta ativação pode, também alterar a liberação de NO em resposta à acetilcolina. Assim, como NO está intimamente relacionado com o sistema GMP cíclico e

suas G-proteínas, nunca é demais ressaltar que a diminuição do relaxamento de vasos ateroscleróticos pode estar relacionada a uma maior produção de radicais superóxidos, com importantes conseqüências no processo aterosclerótico³⁷.

Insuficiência cardíaca - O NO inibe a ação inotrópica positiva à estimulação beta-adrenérgica em humanos com disfunção ventricular esquerda devida a cardiomiopatia dilatada idiopática, mas não em indivíduos sem IC^{38,39}.

Na IC, além do já mencionado comprometimento dos relaxamentos vasculares mediados pelo AMPc, também ocorre comprometimento dos relaxamentos mediados pelo GMPc (NO). Na IC a liberação espontânea de NO está preservada ou aumentada, ao passo que a liberação estimulada, inclusive por exercício, está comprometida. Acresça a possibilidade de que a produção de NO pelo miocárdio, como uma atividade de citoquinas e expressão da forma induzível da NO sintetase (NOSi), possa estar relacionada com deficiência de contratilidade³⁹.

O levantamento bibliográfico específico, tão extenso quanto possível, relacionando IC, sistema GMPc e G-proteínas, não revela trabalhos com menção específica às proteínas de transdução de sinal. Porém, como existem inúmeros trabalhos (bem menos do que em relação ao sistema AMPc), constatando alterações funcionais associadas ao sistema GMPc, pode-se afirmar, com grande margem de segurança, que há comprometimento da transdução de sinal pelas G-proteínas. Pode-se, ainda, especular que esta fun-

ção possa estar normal na situação de repouso e comprometida na situação de exercício ou outra situação de estimulação beta-adrenérgica ou colinérgica. Esta especulação fundamenta-se nas alterações referidas ao comprometimento da liberação de NO e na semelhança de comportamento das Gs-proteínas nas cardiomiopatias isquêmica e dilatada, que se encontram diminuídas⁴⁰⁻⁴².

Conclusão

O papel crucial que as G-proteínas exercem na transdução transmembrana do sinal, vem sendo ressaltado pela rápida expansão da lista de receptores e moléculas efetoras que são acopladas através de G-proteínas. Estas proteínas são equalizadas para permitir discriminação e diversificação de sinais celulares no meio citosólico. A utilização de um evolutivamente preservado "relógio GTPase" pelas G-proteínas, implica no conhecimento do papel biológico fundamental que estas proteínas possam desempenhar. O conhecimento da implicação da expressão alterada ou função das G-proteínas nas doenças humanas é um assunto cada vez mais emergente. Não é surpresa que a deficiência de expressão ou formas alteradas destas importantes proteínas possam levar a distúrbios metabólicos globais ou restritos, dependendo da distribuição e papel das G-proteínas. Doenças humanas, incluindo o alcoolismo, doenças endócrinas, neoplasias e as doenças cardiovasculares discutidas neste texto, são reconhecidas atualmente como conseqüências, em parte, ao comprometimento da expressão ou função das G-proteínas⁴³.

Referências

1. Insel PA, Ransnas LA - G proteins and cardiovascular disease. *Circulation* 1988; 78: 1511-3.
2. Meij JTA - Regulation of G protein function: Implications for heart disease. *Mol Cell Biochem* 1996; 157: 31-8.
3. Champe PC & Harvey RA - Basic concepts in metabolism. In: Champe PC, Harvey RA, eds - *Biochemistry*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott - Raven, 1994: 75.
4. Voet D, Voet JG - Molecular physiology: Biochemical communications. *Hormones and neurotransmission*. In: Voet D, Voet JG, eds - *Biochemistry*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1994: 1261.
5. Evora PRB - O impacto científico da descoberta do óxido nítrico como vasodilatador e antitrombótico endógeno. *Arq Bras Cardiol* 1993; 61: 3-5.
6. Evora PRB, Pearson PJ, Schaff HV - "Impaired endothelium-dependent relaxation to sodium fluoride following coronary reperfusion injury: Evidence for G-protein dysfunction". *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 1550-6.
7. Seger R, Krebs EG - The MAPK signaling cascade. *FASEB J* 1995; 9: 726-35.
8. Evora PRB, Pearson PJ, Discigil B, Seccombe JF, Oeltjen M, Schaff HV - Óxido nítrico e substâncias vasoativas derivadas do endotélio: Papel no controle do tônus vascular. *Rev Soc Cardiol do Est SP* 1996; 6: 129-37.
9. Will-Shaab L, Rosenthal W, Schultze W, Kütner I - G-protein function in ischaemic myocardium. *Eur Heart J* 1991; 12(suppl F): 135-8.
10. Rauch B, Niroomand F - Specific M2-receptor activation: an alternative to treatment with beta-receptor blockers? *Eur Heart J* 1991; 12(suppl F): 76-82.
11. Strasser RH, Marquetant R - Sensitization of the beta-adrenergic system in acute myocardial ischaemia by a protein kinase C-dependent mechanism. *Eur Heart J* 1991; 12(suppl F): 48-53.
12. Ju H, Zhao S, Tappia PS, Panagia V, Dixon IM - Expression of Gq alpha and PLC-beta in scar and border tissue in heart failure due to myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97: 892-9.
13. Feldman RD, Chorazyczewski J - G-protein function is reduced in hypertension. *Hypertension* 1997; 29(1 Pt 2): 422-7.
14. Feldman RD, Tan CM, Chorazyczewski J - G protein alterations in hypertension and aging. *Hypertension* 1995; 26: 725-32.
15. McLellan AR, Milligan G, Houslay MD, Connell JM - G-proteins in essential hypertension: a study of human platelet plasma membranes. *J Hypertens* 1993; 11: 543-9.
16. Castellano M, Bohm M - The cardiac beta-adrenoceptor-mediated signaling pathway and its alterations in hypertensive heart disease. *Hypertension* 1997; 29: 715-22.
17. Bohm M, Gierschik P, Knorr A, Larisch K, Weismann K, Erdmann E - Role of altered G-protein expression in the regulation of myocardial adenylate cyclase activity and force of contraction in spontaneous hypertensive cardiomyopathy in rats. *J Hypertens* 1992; 10: 1115-28.
18. Gawler D, Milligan G, Spiegel AM, Unson CG, Houslay MD - Abolition of the expression of inhibitory guanine nucleotide regulatory protein Gi activity in diabetes. *Nature* 1987; 327: 229-32.
19. Moxham CM, Malbon CC - Insulin action impaired by deficiency of the G-protein subunit G i alpha2. *Nature* 1996; 379: 840-4.
20. Pietruck F, Spleiter S, Daul A et al - Enhanced G protein activation in IDDM patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1998; 41: 94-100.
21. Luft FC - G-proteins and insulin signaling. *J Mol Med* 1997; 75: 233-5.
22. Haring HU - The insulin receptor: signalling mechanism and contribution to the pathogenesis of insulin resistance. *Diabetologia* 1991; 34: 848-61.
23. Weber LP, Macleod KM - Influence of streptozotocin diabetes on the alpha-1 adrenoceptor and associated G proteins in rat arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 1469-78.
24. Pomerantz KB, Nicholson AC, Hajjar DP - Signal transduction in atherosclerosis: second messengers and regulation of cellular cholesterol trafficking. *Adv Exp Med Biol* 1995; 369: 49-64.
25. Kots Aya, Gumanova NG, Akhmedzhanov NM et al - The GTP-binding

- regulatory proteins, Gs and G(i), are altered in erythrocyte membranes of patients with ischemic heart disease resulting from coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1244-51.
26. Bohm M, Flesch M, Schnabel P - Beta-adrenergic signal transduction in the failing and hypertrophied myocardium. *J Mol Med* 1997; 75: 842-8.
 27. Stiles GL - Adrenergic receptor responsiveness and congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1991; 67: 13C-17C.
 28. Sigmund M, Jakob H, Becker H et al - Effects of metoprolol on myocardial beta-adrenoceptors and Gi alpha-proteins in patients with congestive heart failure. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; 51: 127-32.
 29. Xiao RP, Tomhave ED, Wang DJ et al - Age-associated reductions in cardiac beta1- and beta2-adrenergic responses without changes in inhibitory G proteins or receptor kinases. *J Clin Invest* 1998; 101: 1273-82.
 30. Kanagy NL, Charpie JR, Webb RC - Nitric oxide regulation of ADP-ribosylation of G proteins in hypertension. *Med Hypotheses* 1995; 44: 159-64.
 31. Sjöholm A - Glucose stimulates islet beta-cell mitogenesis through GTP-binding proteins and by protein kinase C-dependent mechanisms. *Diabetes* 1997; 46: 1141-79.
 32. Kowluru A, Kowluru RA, Yamazaki - A Functional alterations of G-proteins in diabetic rat retina: a possible explanation for the early visual abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992; 35: 624-31.
 33. Seewald S, Sachinidis A, Dusing R et al - Lysophosphatidic acid and intracellular signalling in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1997; 130: 121-31.
 34. Schmidt K, Klatt P, Mayer B - Hypercholesterolemia is associated with a reduced response of smooth muscle guanylyl cyclase to nitrovasodilators. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1159-63.
 35. Harrison DG - Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 1994; 89(suppl 1): 87-102.
 36. Shimokawa H, Nakaike R, Takeshita - A significance of defective endothelial signal transduction in impaired endothelium-dependent relaxation in atherosclerosis. *Gerontology* 1995; 41(suppl 1): 28-33.
 37. Ohara Y, Peterson te, Harrison DG - Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide production. *J Clin Invest* 1994; 91: 2546-51.
 38. Boulanger CM, Vanhoutte PM - G proteins and endothelium-dependent relaxations. *Vasc Res* 1997; 34: 175-85.
 39. Hare JM, Givertz MM, Creager MA, Colucci WS - Increased sensitivity to nitric oxide synthase inhibition in patients with heart failure: potentiation of beta-adrenergic inotropic responsiveness. *Circulation* 1998; 97: 161-66.
 40. Nasa Y, Toyoshima H, Ohaku H, Hashizume Y, Sanbe A, Takeo S - Impairment of cGMP- and cAMP-mediated vasorelaxations in rats with chronic heart failure. *Am J Physiol* 1996; 271(6 Pt 2): H2228-H37.
 41. Macdonald P, Schyvens C, Winlaw D - The role of nitric oxide in heart failure. Potential for pharmacological intervention. *Drugs Aging* 1996; 8: 452-8.
 42. Brodde OE, Vogelsang M, Broede A et al - Diminished responsiveness of Gs-coupled receptors in severely failing human hearts: no difference in dilated versus ischemic cardiomyopathy. *Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31: 585-94.
 43. Emala CW, Schwindinger WF, Wand GS, Levine MA - Signal-transducing G proteins: basic and clinical implications. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1994; 47: 81-111.