

PROTEÍNA G - MECANISMOS MOLECULARES DE COMUNICAÇÃO CELULAR

Diógenes O. Silva, Najlah R. M. Ahmad, Iberê C. Soares, Cristiane K. Kraemer, Sandro O. Buss e Carlos Fernando de Mello

Departamento de Química - Centro de Ciências Naturais e Exatas

UFSM, Santa Maria, RS

SUMMARY

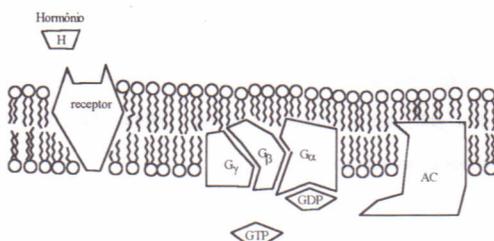
In the present paper the authors comment on the physiological role of G proteins in transmission signalling process and some alterations of this system. The review is directed to beginners and emphasize a visual approach to the theme.

Alfred Goodman Gilman e Martin Rodbell receberam o Nobel de Fisiologia em 1994 por seus trabalhos relevantes na área de comunicação celular, especificamente na área de transdução do sinal hormonal. Estes trabalhos mostraram as bases fisiopatológicas de doenças importantes como o cólera e alguns tipos de tumores (adenoma). Pela relevância médica dos trabalhos destes pesquisadores, apresentamos a seguir uma revisão sobre o tema, intencionando dar ao leitor uma visão geral sobre os mecanismos básicos de comunicação celular.

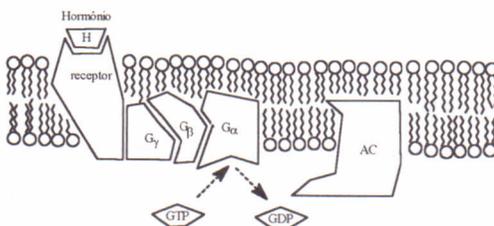
Hormônios e neurotransmissores atuam como elementos de comunicação celular (*primeiros mensageiros*) e modulam o funcionamento dos vários tecidos e órgãos de modo a manter a homeostasia do organismo. Entretanto, a maioria deles não entram na célula que recebe a mensagem (*célula-alvo*). O sinal hormonal é comunicado através da membrana plasmática, por proteínas integrais de membrana chamadas *receptores*. Estes receptores estão acoplados a um

sistema de transmissão de sinal através da membrana plasmática, chamado de sistema de *transdução do sinal*. Uma vez ativado, este sistema desencadeia a produção de *segundos mensageiros* no interior da célula-alvo, que por sua vez atuam sobre enzimas e outras proteínas (*efetoras*), provocando as alterações metabólicas características do hormônio (Figura 1). Falaremos a seguir sobre estes mecanismos de transdução, cujo mecanismo básico é comum a vários receptores dos mais diversos hormônios e neurotransmissores.

A interação do hormônio com o receptor representa somente o primeiro passo na cascata de eventos que envolve a transdução do sinal e a ação do hormônio. Entre a ligação do hormônio ao receptor e a ação do efetor, uma proteína chamada *Proteína G* atua com elemento intermediário. A proteína G é composta de três subunidades distintas, denominadas α , β e γ ; e é assim chamada porque a subunidade α é capaz de ligar nucleotídeos da guanina (GDP e GTP). Seguiremos passo a passo estes eventos, mostrando de que forma ocorre a transmissão do sinal, e a participação de cada uma das subunidades da proteína G neste processo.

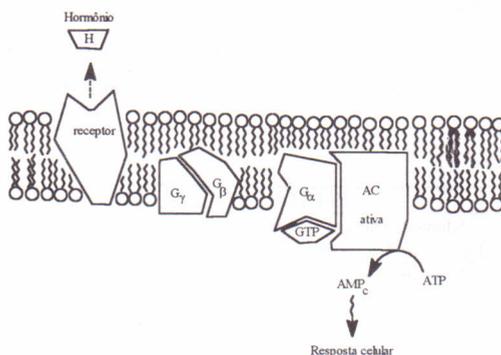


1. Estado Basal: O receptor não está ocupado. A proteína G está na forma de heterotrímero (as três subunidades unidas entre si), e a subunidade α apresenta uma molécula de **GDP** ligada, o que deixa esta subunidade **inativa**. O efetor (neste exemplo, colocamos a enzima adenilato ciclase -AC- como efetor) também se encontra no estado **inativo**.

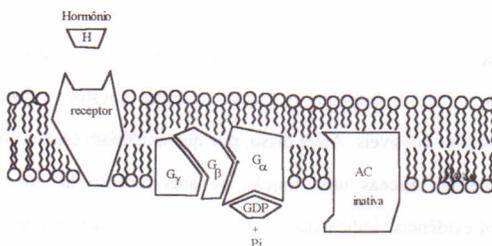


2.O hormônio se liga ao receptor, provocando uma alteração conformacional. O receptor interage com o heterotrímero, produzindo uma alteração conformacional no complexo e

deslocando o GDP da subunidade α . O GTP se liga ao sítio anteriormente ocupado pelo GDP na subunidade α , **ativando-a**.



3. A ligação do GTP à subunidade α provoca uma diminuição na afinidade do receptor pelo hormônio, liberando-o. De maneira semelhante, diminui também a afinidade entre as moléculas do heterotrímero, e a subunidade α ativada se dissocia do complexo $\beta\gamma$ (que teria uma função de ancoramento da subunidade α à membrana), e se liga ao efetor, **ativando-o**. A proteína efetora (adenilato ciclase), fica ativada gerando o segundo mensageiro (neste caso, é o AMP_c).



4. Após ativar a proteína efetora, a subunidade α termina seu efeito através da hidrólise do GTP ligado, transformando-o em GDP e se dissociando do efetor. Esta hidrólise é catalisada pela própria subunidade α , que possui uma atividade GTPásica. A presença do GDP aumenta a afinidade da subunidade α pelas subunidades β e γ , recompondo o heterotrímero e voltando todo sistema ao estado basal.

As proteínas G foram inicialmente classificadas de acordo com o papel desempenhado pela subunidade α . No nosso exemplo mostramos uma proteína G cuja subunidade α tinha um papel estimulatório da adenilato ciclase, e portanto se tratava de uma proteína G_S (do inglês *stimulatory*). Se esta proteína G tivesse um papel inibitório sobre a adenilato ciclase, ela seria uma proteína G_I. Atualmente, esta classificação vem sendo abandonada, e uma nova nomenclatura

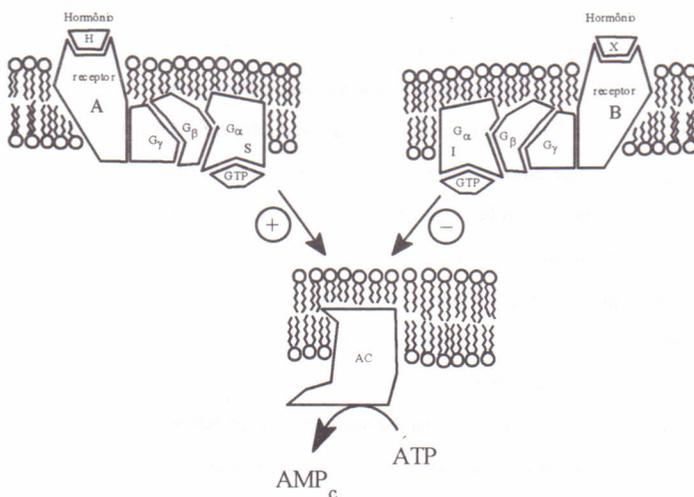
baseada na homologia da sequência de aminoácidos das várias proteínas G tem sido proposta. Por isso, algumas proteínas G_i não terão ação sobre a adenilato ciclase, mas sim sobre outro efetor, que pode ser, por exemplo, uma fosfodiesterase específica para GMPc. De qualquer maneira, como não é nossa intenção esgotar o assunto, mostraremos, no quadro abaixo, algumas proteínas G e o efetor associado a título de ilustração.

Proteína	EFETOR
Gs	Adenilato ciclase - ativação Canal de Ca^{2+} - abertura
Golf	Adenilato ciclase - ativação
Gt1	Fosfodiesterase GMPc - ativação
Gt2	Fosfodiesterase GMPc - ativação
Gi1, Gi2, Gi3	Adenilato ciclase - inibição Canal de K^+ - abertura Canal de Na^+ - fechamento
Go	Canal de Ca^{2+} - fechamento Fosfolipase C - ativação
Gz	desconhecido
Gq, G11, G14, G15/16	Fosfolipase C - ativação
G12, G13	desconhecido

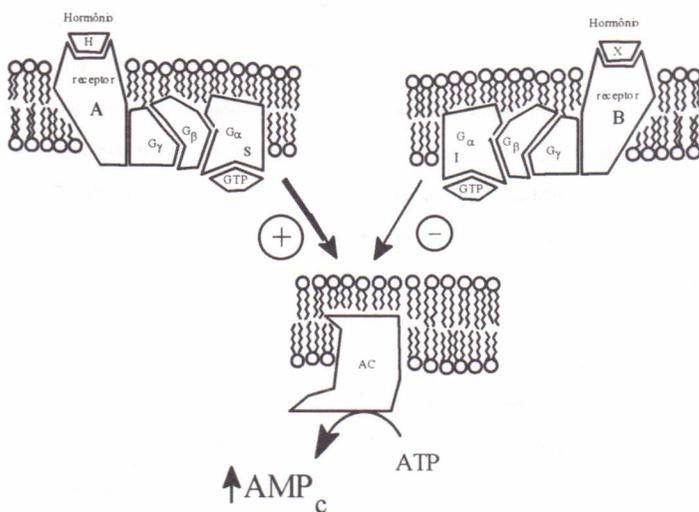
Foram identificados até 1994, através de clonagem gênica, vinte e uma subunidades α diferentes, quatro β e seis γ . Esta diversidade molecular levantou questões sobre as funções destas subunidades e as combinações possíveis. Além disso, por que existiriam tantas subunidades β e γ diferentes, se estas exercessem apenas uma função de ancoramento da subunidade α à membrana? Atualmente existem evidências indicando que o complexo $\beta\gamma$ participa no processo de ativação da proteína G, interagindo com receptores e proteínas efetoras. A nível de receptor, existem evidências mostrando que o tipo de subunidade $\beta\gamma$ associada modifica a capacidade da subunidade α de ligar GTP. A nível de proteínas efetoras têm sido demonstrado que existem algumas isoformas de adenilato ciclase (AC) que são reguladas pelo complexo $\beta\gamma$. O subtipo I é inibido pelo complexo $\beta\gamma$, e os subtipos II e IV são estimulados. O efeito estimulatório do complexo $\beta\gamma$ sobre a AC subtipo II e IV, é, entretanto, dependente da presença da subunidade α , o que confere um papel modulatório à subunidade $\beta\gamma$. Por outro lado, o efeito inibitório sobre a AC tipo I, não depende da presença da subunidade α , o que demonstra um papel independente da subunidade $\beta\gamma$ como elemento ativo na transdução do sinal através da membrana plasmática.

Alterações em propriedades da proteína G, como perda da atividade GTPásica da subunidade α , podem levar a estados de ativação permanente do sistema transdução. O desenho

abaixo ilustra algumas destas alterações que podem levar a uma modificação nos níveis celulares de AMPc:



A adenilato ciclase, enzima que forma AMPc está sob a regulação simultânea das proteínas *G_i* e *G_s*, que se encontram associadas a tipos diferentes de receptores. O receptor A do hormônio H está associado a uma *G_s*, e sua estimulação leva a um aumento na produção de AMPc. Por outro lado, o receptor B do hormônio X está associado a uma *G_i*, e portanto, a ação do hormônio X é a diminuição na concentração de AMPc intracelular.



Uma produção aumentada de AMPc pode resultar de uma ativação da G_s, por um aumento na produção celular de G_s, mutação ou modificação estrutural catalisada por toxina colérica. No caso da toxina colérica, o aumento na atividade adenilato ciclásica, leva a um aumento nos níveis de AMPc das células do epitélio intestinal, com alteração na permeabilidade celular e no fluxo de íons no intestino. Este fluxo de íons leva a uma diarreia osmótica severa.

Em todos os casos há um aumento na produção de AMPc por mecanismos relacionados a uma sobreposição dos mecanismos relacionados à G_s sobre os relacionados à G_i. Por outro lado, o mesmo resultado metabólico (aumento na concentração de AMPc) pode ocorrer por diminuição da atividade da G_i. Isto ocorre através de modificações estruturais induzidas por toxinas como a toxina pertussis (produzida pela *Bordetella pertussis*, a bactéria causadora da coqueluche), diminuição na expressão de G_i, e possivelmente mutações que inativem G_i.

Recentemente foram identificados sítios de palmitoilação (adição de uma molécula de palmitato - ácido graxo de 16 carbonos) na subunidade α de proteínas G_s. Este fenômeno é desencadeado somente pela presença de um agonista (no caso, adrenérgico), e pode representar um possível mecanismo de regulação da atividade da subunidade α . Até agora, entretanto, não foi definido se esta palmitoilação modifica a atividade da subunidade α . Sabe-se somente que ela facilita a interação da subunidade α com a membrana. Por outro lado, a exposição de células a agonistas de receptores ligados à proteínas G causa uma alteração nos níveis celulares destas proteínas, provavelmente através de mecanismos envolvendo transcrição e tradução. Através deste mecanismo, as proteínas G devem participar do fenômeno de dependência de drogas, particularmente na dependência a opióides. Os opióides atuam sobre neurônios do *locus ceruleus* e *nucleus accumbens* inibindo a atividade adenilato ciclásica através da ativação de proteínas G inibitórias. A inibição crônica do sistema leva a um mecanismo adaptativo, onde ocorre uma resposta compensatória de ativação do sistema envolvendo a adenilato ciclase que parece estar associado ao fenômeno de drogadição. Esta ativação crônica parece ser mediada pela diminuição nos níveis de proteínas G_i e G_o, pelo menos no que diz respeito ao *nucleus accumbens*. Isto, entretanto, parece não se constituir no único mecanismo de desenvolvimento do fenômeno de drogadição, e alterações concomitantes nos níveis de neurotransmissores como a dopamina, por exemplo, também têm papel relevante no processo.

Em função da sua presença em todas as células, as proteínas G certamente receberão muito mais funções das que as atualmente descritas, e a exploração destes mecanismos abrirá não só novas portas para o entendimento do fenômeno da comunicação celular, como outras áreas, como a farmacologia, será beneficiada pelo desenvolvimento potencial de drogas que atuem a nível de

proteína G. Uma abordagem mais detalhada sobre os sistemas efetores específicos modulados por proteínas G e suas eventuais alterações pode ser obtida nas referências que seguem.

REFERÊNCIAS

- Exton, J.H. (1994). Phosphoinositide phospholipases and G proteins in hormone action, *Annual Review of Physiology*, **56**, 349-369.
- Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P. (1990). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Pergamon Press, New York.
- Hepler, J.R. & Gilman (1992). G Proteins, *Trends in Biochemical Sciences*, **17**, 383-387.
- Hille, B. (1992). G protein-couple mechanisms and nervous signalling. *Neuron*, **9**, 187-195.
- Kobilka, B. (1992). Adrenergic receptors as models for G protein-coupled receptors. *Annual Review of Neuroscience*, **15**, 87-114.
- Lad, P.M., Welton, A.F. & Rodbell, M. (1977). Evidence for distinct guanine nucleotide sites in the regulation of the glucagon receptor and of adenylate cyclase. *Journal of Biological Chemistry*, **252**, 5942-5946.
- Lefkowitz, R.J., Cotecchia, S., Samama, P. & Costa, T. (1993). Constitutive activity of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Trends in Pharmacological Sciences*, **14**, 303-307.
- Mattera, R., Graziano, M.P., Yatani, A., Zhou, Z., Graf, R., Codina, J., Birnbaumer, L., Gilman, A.G. & Brown, A.M. (1989). Splice variants of the α subunit of the G protein G_s activate both adenylyl cyclase and calcium channels. *Science*, **243**, 804-807.
- Milligan, G. (1993). Agonist regulation of cellular G protein levels and distribution: mechanisms and functional implications. *Trends in Pharmacological Sciences*, **14**, 413-418.
- Moriarti, T.M., Padrell, E., Carty, D.J., Omri, G., Landau, E.M. & Iyengar, R. (1990). G_o protein as a signal transducer in the pertussis toxin-sensitive phosphatidylinositol pathway. *Nature*, **343**, 79-82.
- Müller, S. & Lohse, M.J. (1995). The role of $\beta\gamma$ subunits in signal transduction. *Biochemical Society Transactions*, **23**, 141-148.
- Mumby, S.M. & Muntz, K.H. (1995). Receptor regulation of G protein palmitoylation. *Biochemical Society Transactions*, **23**, 156-160.

- Nestler, E.J. (1992). Molecular mechanisms of drug addiction, *The Journal of Neuroscience*, **12**, 2439-2450.
- Raw, J. D. (1992). *Biochemistry*, Neil Paterson Publishers, Burlington, North Carolina.
- Reynolds, I.J. & Schmidt, C.J., (1988). Guanine nucleotides are competitive inhibitors of N-methyl-D-aspartate at its receptor site both in vitro and in vivo. *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **250**, 162-169.
- Rodnight, R. & Wofchuk, S. (1992). Roles for protein phosphorylation in synaptic transmission. *Essays in Biochemistry*, **27**, 91-102.
- Ross, E.M. (1989). Signal sorting and amplification through G protein-coupling receptors. *Neuron*, **3**, 141-152.
- Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W. & Molinoff, P.B. (1994). *Basic Neurochemistry*, Raven Press, New York.
- Spiegel, A.M., Shenker, A. & Weinstein, L.S. (1992). Receptor-effector coupling by G proteins: Implications for normal and abnormal signal transduction. *Endocrine Reviews*, **13**, 536-565.
- Walaas, S.I. & Greengard, P. (1991). Protein phosphorylation and neuronal function. *Pharmacological Reviews*, **43**, 299-349.