

VALTER T. MOTTA

BIOQUÍMICA BÁSICA

Regulação do Metabolismo Energético

12

Regulação do Metabolismo Energético

Objetivos

1. Compreender as estratégias intracelulares de regulação do metabolismo.
2. Discutir o controle extracelular do metabolismo em relação a influência hormonal sobre o metabolismo celular.
3. Discutir a produção e o papel dos segundos mensageiros na transdução de sinal.
4. Discutir o mecanismo de ação dos hormônios hidrofóbicos.

A operação simultânea das vias anabólicas (síntese) e catabólicas (degradação) seria improdutiva e impraticável termodinamicamente. As diferenças existentes entre os processos sintéticos e degradativos são coordenados para facilitar a regulação das vias. O controle do metabolismo é realizado no interior da célula (controle intracelular) ou por estímulos externos à célula (controle extracelular).

12.1 Controle intracelular do metabolismo

A regulação das vias metabólicas deve ser considerada em termos das características de cada reação constituinte. A partir do conhecimento das concentrações intracelulares dos substrato(s) e produto(s) de uma reação, é possível calcular a relação $[produto]/[substrato]$ e comparar o resultado obtido com o valor estabelecido para a constante de equilíbrio (K'_{eq}) da reação. Distinguem-se dois casos:

1. Reações próximas do equilíbrio. Os componentes da reação quando presentes em concentrações próximas das concentrações de equilíbrio, o valor da relação $[produto]/[substrato]$ é próxima ao K'_{eq} e, portanto, valores de $\Delta G'$ são próximos de zero. São reações não sujeitas a regulação e rapidamente leva substratos e produtos à concentração de equilíbrio. Tais reações são facilmente revertidas por mudanças das concentrações de produtos e/ou reagentes. Mudanças nas concentrações dos substratos produzem rápida e concomitante alteração nos níveis do produto até que o equilíbrio seja atingido. Do

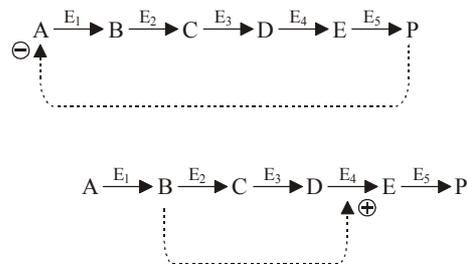
mesmo modo, quando os produtos estiverem em excesso, a reação ocorrerá na direção inversa até que as concentrações de equilíbrio sejam atingidas. *A velocidade dessas reações é regulada pela concentração relativa de substratos e de produtos.*

2. Reações longe do equilíbrio. O valor da relação $[produto]/[substrato]$ apresenta-se distante da K'_{eq} e a $\Delta G'$ é grande (reações irreversíveis). A atividade da enzima é baixa e não permite que o equilíbrio seja atingido. Conseqüentemente, os substratos acumulam-se enquanto a quantidade de produto é reduzida devido à transformação do mesmo pela enzima seguinte na via. Mudanças na atividade da enzima (ex.: interações alostéricas) podem modificar a velocidade da reação e, assim, alterar o *fluxo metabólico* (velocidade de escoamento) por meio de uma via que pode variar em resposta às necessidades metabólicas do organismo. Muitas reações que operam longe do equilíbrio são irreversíveis (exergônicas) e determinam a velocidade de toda a via metabólica. São chamadas *etapas limitantes da reação*. As enzimas que catalisam reações longe do equilíbrio estão sujeitas a regulação por diversos mecanismos.

A. Mecanismos de controle de vias metabólicas

A conservação dos recursos celulares e o controle dos fluxos metabólicos são realizados por diferentes estratégias. Baseiam-se em mecanismos de controle da atividade e concentração das enzimas:

1. *Controle alostérico.* Os efetores alostéricos negativos ou positivos ligam-se a sítios alostéricos que catalisam etapas chaves das vias metabólicas (reações essencialmente irreversíveis). Os efetores (moduladores) podem ser substratos, produtos ou coenzimas (ver Capítulo 3: Enzimas).



2. *Ciclos de substratos.* São úteis quando reações opostas de não-equilíbrio – anabólicas ou catabólicas – envolvem o mesmo intermediário mas seguem em direções opostas. Em ausência de regulação, os dois metabólitos podem ser continuamente produzidos. O fluxo através de tais ciclos do substrato permite a *regulação recíproca* por diferentes enzimas alostéricas que catalisam a reação direta e a reação oposta. Os ciclos do substrato determinam a direção e a amplitude das alterações no fluxo metabólico em função das modificações nas concentrações dos efetores alostéricos.
3. *Ciclos de interconversões enzimáticas* (modificações covalentes). Realizam a “sintonia-fina” do fluxo de vias metabólicas. As enzimas envolvidas podem existir sob duas formas, fosforiladas e

não-fosforiladas. A conversão de uma forma em outra, envolve a modificação covalente da enzima. Em pH fisiológico, o grupo fosfato é portador de duas cargas negativas e a *fosforilação* resulta na introdução de grupo carregado que induz novos arranjos na estrutura protéica da enzima. A modificação conformacional pode ser revertida por *defosforilação*. A fosforilação e a defosforilação protéica é realizada por *cinases* e *fosfatases* em reações de não-equilíbrio reguladas por efetores alostéricos.

4. *Disponibilidade de substratos*. É um mecanismo que controla muitas vias metabólicas. O controle opera em vários níveis celulares:
 - A *membrana plasmática* regula a entrada de nutrientes. Alguns hormônios podem ser necessários para efetuar a captação de certos nutrientes, exemplo, a insulina promove a entrada de glicose nas células-alvo.
 - As *membranas intracelulares* controlam a velocidade de entrada de metabólitos em um compartimento em particular. O fluxo metabólico pode ser controlado limitando a concentração de substrato, exemplo, a velocidade de entrada da acil-CoA na matriz mitocondrial modula a velocidade da β -oxidação dos ácidos graxos.
 - A *atividade metabólica de outras vias* pode influenciar a atividade enzimática. O ciclo do ácido cítrico pode ser inibido pela utilização de acetil-CoA e oxaloacetato em outras vias.
5. *Estado energético*. As vias anabólicas podem ser reguladas pela disponibilidade de energia (ATP) para conduzir as reações endergônicas. Assim, as vias catabólicas (reações exergônicas) operam em resposta as demandas por energia para aos processos biossintéticos (reações endergônicas) em reações acopladas baseadas no efeito somatório da energia livre.
6. *Alterações nas concentrações de enzimas chaves*. É um mecanismo que envolve modificações na velocidade de síntese ou de degradação de enzimas chaves em resposta às necessidades metabólicas. Altas concentrações de substrato podem induzir à síntese de novas moléculas de enzima, em fenômeno conhecido como *indução enzimática*. No início, a indução enzimática ocorre no fígado e envolve a transcrição do gene específico codificador da enzima seguido pela tradução do mRNA para gerar moléculas adicionais da enzima. De modo inverso, a presença do produto final de uma via pode interromper a síntese da enzima necessária para a sua produção, um evento chamado *repressão enzimática*. A molécula do *repressor* (produto final), inibe a síntese da enzima pertinente pelo bloqueio da transcrição do gene. O resultado é um declínio progressivo na concentração da enzima por meio de processos celulares degradativos normais. As velocidades de síntese e degradação de muitas enzimas reguladoras são alteradas por hormônios.

12.2 Controle extracelular do metabolismo

As membranas plasmáticas das células contêm receptores específicos que permitem que a célula responda a estímulos químicos externos que não podem atravessar a membrana. Nos organismos multicelulares os estímulos são:

- *Hormônios*. São mensageiros químicos sintetizados pelas glândulas endócrinas e transportados pela corrente sanguínea aos locais de ação, que costumam ser distantes do ponto de origem do hormônio.
- *Neurotransmissores*. São moléculas liberadas pelas células nervosas que atuam como sinais químicos para alterar o comportamento de células vizinhas.
- *Fatores de crescimento*. São proteínas que regulam a proliferação celular.

A. Hormônios

As atividades metabólicas intracelulares são coordenadas em algum grau por mensageiros químicos conhecidos por *hormônios*. A síntese e secreção de muitos hormônios são reguladas por complexos mecanismos de cascata e controlados em última análise, pelo sistema nervoso central. Os hormônios são produzidos por células especializadas (sistema endócrino) e transportados pelo sangue para ajustar a atividade fisiológica das células-alvo. Muitos hormônios modificam as funções celulares por alterações na atividade ou concentração de enzimas. As principais hormônios envolvidos no metabolismo energético são:

- *Hormônios polipeptídicos*. Existe uma grande variedade de hormônios polipeptídicos, como por exemplo, os hormônios hipotalâmicos e hormônios hipofisários. De grande interesse para o metabolismo energético são os hormônios insulina e glucagon. A expressão, hormônios polipeptídicos envolvem também fatores de crescimento e citocinas.
- *Hormônios derivados de aminoácidos*. Principalmente tirosina e fenilalanina. Exemplos, a adrenalina (ou epinefrina) sintetizada na medula adrenal e a tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3) produzidas pela tireóide.
- *Hormônios esteróides*. São hormônios sintetizados a partir do colesterol. Formam duas classes: os hormônios sexuais e gestacionais e os hormônios adrenais.

Os hormônios polipeptídicos e alguns hormônios derivados de aminoácidos, tais como a adrenalina, são solúveis em água (hidrofílicos), mas insolúveis em lipídeos e, portanto, não atravessam as membranas plasmáticas das células. Não penetram nas células-alvo, mas interagem com *receptores* específicos presentes na superfície celular para desencadear respostas intracelulares. As ações no interior das células são mediadas por moléculas de baixo peso molecular denominadas *segundos mensageiros* (a molécula de hormônio é o primeiro mensageiro).

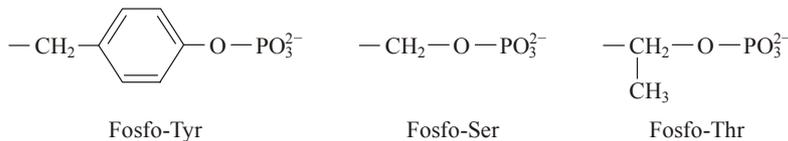
Os hormônios esteróides e tireoideanos (tiroxina e triiodotironina) atuam por diferentes mecanismos. Após difusão para dentro das células-alvo, se ligam a proteínas receptoras específicas no citoplasma e se movem para o interior do núcleo onde se unem a sítios específicos do DNA. Alteram a transcrição gênica e, assim, a síntese protéica.

B. Transdução de sinal

A *transdução de sinal* é a capacidade da célula em responder aos sinais extracelulares por meio de um conjunto de proteínas que reconhecem o sinal hormonal, transmitem o sinal para o interior da célula e medeiam alterações da atividade enzimática e da expressão gênica.

As vias de transdução de sinal variam grandemente em seus detalhes moleculares, no entanto, certos elementos são semelhantes:

1. Os receptores localizados na superfície das células reconhecem as características estruturais do ligante (moléculas extracelulares). O ligante pode ser um fator de crescimento ou um hormônio peptídico, um neurotransmissor ou uma molécula odorante. A ligação do receptor a seu ligante é altamente específica, envolvendo interações hidrofóbicas ou interações eletrostáticas.
2. Os receptores são proteínas transmembrana que se comunicam tanto com o exterior como com o interior da célula. A ligação do ligante altera a conformação da molécula do receptor, transmitindo assim, o sinal através da membrana.
3. Alterações conformacionais podem modificar as interações do receptor com outras proteínas ou podem estimular a própria atividade catalítica. Por exemplo, alguns receptores são enzimas enquanto outros são canais iônicos que abrem ou fecham em resposta a ligação do ligante.
4. A ligação do ligante ao receptor inicia uma série de eventos que ocorrem em cascata com cada componente da via de sinalização ativando a seguinte. Essas etapas servem para amplificar o sinal inicial. Muitas vias sinalizadoras envolvem *proteínas-cinases*, enzimas que transferem o grupo fosforil do ATP para um substrato polipeptídico. As cinases são de dois tipos: as *tirosina-cinases* transferem um grupo fosforil para o grupo OH de uma cadeia lateral da Tyr. As *Ser/Thr-cinases* transferem o grupo para a cadeia lateral da Ser ou Thr.



5. Vias sinalizadoras constituídas por enzimas que geram sinais intracelulares chamados *segundos mensageiros* (para distinguir do primeiro mensageiro ou extracelular). Os segundos mensageiros incluem íons cálcio e derivados nucleotídicos e lipídicos, que difundem por alguma distância no citosol celular. Os movimentos dos segundos mensageiros ou outros

componentes da via sinalizadora podem ser necessários para que um sinal extracelular promova alterações em vias metabólicas cujas enzimas estão localizadas longe da superfície celular ou no interior de organelas. Se a via sinalizadora altera a expressão gênica, o sinal deve viajar até o núcleo, onde é reconhecido por mecanismos de importação nuclear. Os mais importantes segundos mensageiros são: AMP cíclico (AMPc), GMP cíclico (GMPc), 1,2-diacilglicerol (DAG), inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃) e Ca²⁺.

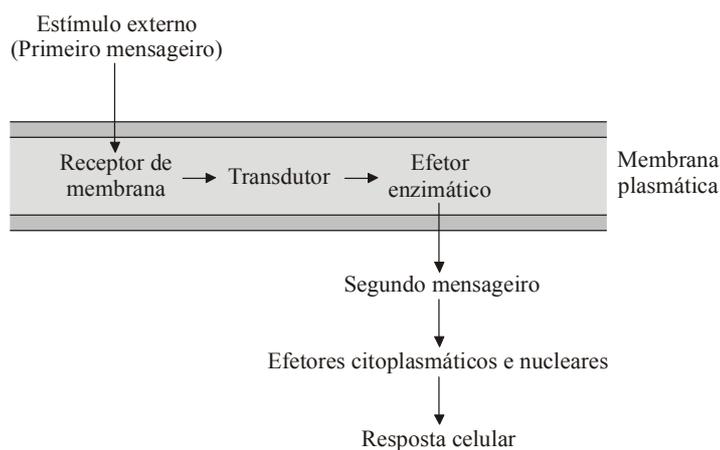


Figura 12.1
Mecanismos gerais de transdução de sinal através da membrana plasmática da célula.

6. Via de sinalização com chave liga/desliga. O mesmo sinal que inicia uma resposta intracelular pode também ativar um mecanismo de redução da resposta. Por exemplo, a ativação de uma proteína-cinase muitas vezes desencadeia a ativação de uma *fosfatase*, uma enzima que remove o grupo fosforil e assim, restabelece os componentes sinalizadores ao seu estado de repouso. Esse mecanismo tende a limitar tanto a extensão como a duração dos efeitos de um hormônio.

D. Ação da insulina

Logo após uma refeição, a concentração da glicose sanguínea pode aumentar em cerca de 8 mM, em relação à concentração normal de 3,6–5,6 mM. O aumento da glicose circulante desencadeia a liberação do hormônio insulina.

A insulina é um hormônio polipeptídico de 51 aminoácidos, secretado pelas células β das ilhotas pancreáticas (Langerhans), que promove a utilização da glicose, a síntese de proteínas e a formação e o armazenamento de triacilgliceróis. As principais ações metabólicas da insulina são:

- *Músculo e outros tecidos*. Promovem o transporte da glicose para o interior das células, estimulam a síntese do glicogênio e suprimem a degradação do glicogênio.

- *Adipócitos*. Ativa a lipase lipoprotéica extracelular, aumenta o nível da acetil-CoA-carboxilase e estimula a síntese de triacilgliceróis.

Uma vez liberada para o sangue, a insulina liga-se aos receptores de insulina na superfície das células dos músculos e outros tecidos. O receptor de insulina é um membro de uma família de receptores de superfície celular que se ligam a vários polipeptídeos, por exemplo, EGF (fator de crescimento epidérmico), PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas) e IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina). Apesar das diferenças estruturais existentes entre os membros do grupo, eles possuem algumas características em comum: (1) um domínio externo que interage com ligantes extracelulares específicos, (2) um segmento transmembrana e (3) um domínio catalítico citoplasmático com atividade *tirosina-cinase*. Quando um ligante (por exemplo, a insulina) interage com o domínio externo, uma mudança conformacional na proteína receptora ativa o domínio *tirosina-cinase*. A *tirosina-cinase* ativa inicia uma cascata de fosforilação que provoca a autofosforilação do domínio *tirosina-cinase*.

O receptor de insulina é uma glicoproteína transmembrana composta por estrutura quaternária $(\alpha\beta)_2$. Duas grandes subunidades α (135 kD) são extracelulares, onde se liga a insulina. Cada subunidade β (95 kD) em sua porção intracelular, contém um segmento transmembrana e domínios com atividade de *tirosina-cinase*. Na ausência do hormônio, os dois domínios intracelulares das subunidades β estão separados. A ligação da insulina desencadeia uma modificação conformacional no receptor que junta os domínios. Cada domínio intracelular da subunidade β é uma *tirosina-cinase* que promove a autofosforilação. A *tirosina-cinase* também fosforila um ou mais resíduos de *tirosina* em outras proteínas, incluindo a IRS-1 (substrato-1 do receptor de insulina) que desencadeia eventos adicionais na célula.

A ligação da insulina às subunidades α ativa a *tirosina-cinase* do receptor e causa a fosforilação em cascata que modula várias proteínas intracelulares. Por exemplo, a insulina ligada inibe a lipase sensível a hormônios nos adipócitos. Aparentemente, isso ocorre pela ativação de uma fosfatase que defosforila a lipase. Além disso, vários estudos sugerem que segundos mensageiros também são empregados, por exemplo, o inositol monofosfato ou 1,2-diacilglicerol (DAG), na ativação da proteína-cinase C.

A ligação de insulina inicia uma cascata de fosforilação que induz a transferência de várias proteínas para a superfície celular. Exemplos dessas moléculas incluem certas isoformas dos transportadores de glicose e os receptores de LDL e IGF-II. O movimento das moléculas para a membrana plasmática na fase pós-absortiva do ciclo jejum-alimentado, promove a captação de nutrientes pela célula e sinais promotores do crescimento.

Componentes adicionais das vias de transdução de sinal contêm uma região conhecida como domínio SH2 formada por uma cadeia lateral de Arg que interage com os grupos fosfo-Tyr do receptor e com outras proteínas. Essas interações permitem que a ligação de um hormônio altere a atividade de várias proteínas intracelulares. Em um

caso, uma porção do receptor é clivada por uma protease e viaja até o núcleo, onde modula a transcrição gênica.

Insulina altera os processos metabólicos

Somente as células que possuem receptores para a insulina respondem ao hormônio e, o tipo de resposta, varia para cada tipo de célula. Nos tecidos insulina-responsivos como os músculos e o tecido adiposo, a insulina estimula fortemente o transporte de glicose para o interior das células. A V_{\max} para o transporte da glicose aumenta, não porque a insulina altera a atividade catalítica intrínseca do transportador, mas porque a insulina aumenta o número de transportadores da superfície celular. Esses transportadores denominados GLUT4 (transportador de glicose isoforma 4) para distinguir de outras proteínas transportadoras de glicose, são estimulados nas membranas de vesículas intracelulares. Quando a insulina se liga à célula, a vesícula funde-se com a membrana plasmática. Essa translocação do transportadores para a superfície celular aumenta a velocidade pela qual a glicose entra na célula. A GLUT4 é um transportador passivo, que opera de forma similar ao transportador de glicose nos eritrócitos. Quando o estímulo insulínico é removido, os transportadores retornam para as vesículas intracelulares por endocitose.

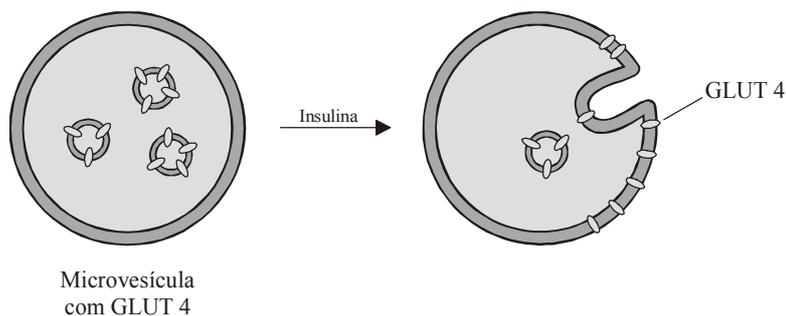


Figura 12.2

Efeito da insulina sobre o GLUT4. A insulina estimula a fusão da microvesícula com a proteína transportadora de glicose GLUT4 aumentando o número de transportadores de glicose na membrana plasmática.

A insulina estimula a captação de ácidos graxos e glicose. Quando o hormônio se liga ao seu receptor no tecido adiposo, ocorre a ativação da proteína extracelular lipase lipoprotéica, que remove os ácidos graxos das lipoproteínas circulantes para serem captados e armazenados nos adipócitos.

A ligação da insulina em seus receptores na superfície celular também modula as enzimas do metabolismo do glicogênio. O metabolismo do glicogênio é caracterizado pelo equilíbrio entre a síntese e a degradação do glicogênio. A síntese é realizada pela enzima glicogênio-sintase, que adiciona unidades de glicose aos terminais de um polímero de glicogênio (*ver* Capítulo 6).

A glicogênio-fosforilase mobiliza resíduos de glicose do glicogênio por fosforólise (clivagem pela adição de um grupo fosfato em lugar de água) para a glicólise. A insulina participa indiretamente da regulação da glicogênio-sintase e da glicogênio-fosforilase. O

receptor tirosina-cinase para a insulina ativa outras proteínas, incluindo fosfatases que defosforilam (ativam) a glicogênio-sintase e defosforilam (desativam) a glicogênio-fosfarilase. Isso resulta na aceleração da síntese do glicogênio enquanto a velocidade da glicogenólise diminui. De fato, as múltiplas cinases e fosfatases interagem com as enzimas do metabolismo do glicogênio para produzir uma sintonia fina na regulação que, ao final, é controlada por sinais introduzidos por hormônios extracelulares.

Quadro 12.1 Efeitos metabólicos do diabetes

A característica fundamental do diabetes não-tratado é a *hiperglicemia* crônica (elevadas taxas de glicose no sangue). A perda de sensibilidade pelos tecidos à insulina promove a falta de captação de glicose. O metabolismo responde como se não existisse glicose disponível, de tal modo que a gliconeogênese aumenta produzindo maior hiperglicemia. A glicose circulante em altas concentrações participa da glicação não-enzimática das proteínas. Esse processo é lento, mas as proteínas glicadas podem gradualmente acumular e danificar tecidos provocando, por exemplo, doença arterial coronária, retinopatia, nefropatia, catarata e neuropatia.

A lesão tecidual também pode resultar de efeitos metabólicos da hiperglicemia. Como os músculos e o tecido adiposo são incapazes de aumentar a captação de glicose em resposta à insulina, a glicose penetra em outros tecidos. No interior dessas células, a *aldose-redutase* catalisa a conversão da glicose em sorbitol:



Como a aldose-redutase tem um K_m elevado para a glicose (ao redor de 100 mM), a velocidade da reação é normalmente muito lenta. No entanto, sob condições hiperglicêmicas, o sorbitol acumula e pode alterar o equilíbrio osmótico da célula que modifica a função renal e desencadeia a precipitação de proteínas em outros tecidos. A agregação das proteínas no cristalino leva à catarata. Os neurônios e as células que revestem os vasos sanguíneos também podem ser lesados, aumentando a probabilidade de neuropatias e problemas circulatórios que em casos severos resultam em infarto do miocárdio, derrames ou amputação das extremidades.

O diabetes é também uma desordem do metabolismo das gorduras, pois a insulina normalmente estimula a síntese de triacilglicerol e suprime a lipólise nos adipócitos. O diabetes não-controlado tende a metabolizar os ácidos graxos em lugar dos carboidratos, o que resulta na produção de corpos cetônicos. O excesso de produção de corpos cetônicos leva a cetoacidose diabética.

No diabetes, o organismo acredita estar em jejum. Paradoxalmente, cerca de 80% dos pacientes com diabetes tipo 2 são obesos. A obesidade – particularmente com grandes depósitos abdominais – está fortemente correlacionada com o desenvolvimento da doença. Isso se deve ao aumento dos níveis de ácidos graxos circulantes que podem interferir no metabolismo de outros combustíveis metabólicos, os carboidratos. Desse modo, as células empregam menos glicose como combustível. Como resposta, as células β do pâncreas deveriam aumentar a produção de insulina (alguns tipos de diabetes tipo 2 apresentam elevados teores de insulina) no entanto, eventualmente ela está reduzida.

O tecido adiposo exerce um papel ativo no desenvolvimento de diabetes do tipo 2. Os adipócitos não são depósitos inertes de gordura mas sintetizam ativamente hormônios peptídicos e esteróides, que atuam em outros órgãos incluindo o cérebro. Por exemplo, os adipócitos secretam *leptina*, um hormônio que ajuda a regular o apetite e contribui no desenvolvimento da obesidade.

Os adipócitos também produzem dois hormônios, *fator de necrose tumoral α* (TNF- α) e *resistina*. O hormônio protéico resistina pode explicar como a obesidade se relaciona ao diabetes tipo 2. Em pessoas obesas, os adipócitos produzem níveis aumentados de resistina que atuam prejudicando o funcionamento dos receptores de insulina que existem na célula. Assim, as células deixam de responder à insulina quando existe muita resistina no sangue. Deste modo, as pessoas obesas têm mais resistina e, como consequência, respondem pior à insulina, desenvolvendo diabetes.

Certos fármacos empregados para tratar o diabetes tipo 2 parecem diminuir a quantidade de resistina secretada pelos adipócitos. No entanto, o papel da resistina sob condições normais (não-diabéticas) permanece obscura.

C. Ação do glucagon e das catecolaminas

Algumas horas após uma refeição, a glicose da dieta foi captada pelas células e consumida como combustível, armazenada como glicogênio ou convertida em ácidos graxos para ser utilizada a longo prazo. A partir desse momento, o fígado inicia a mobilização da glicose para manter a concentração da glicose sanguínea constante. Essa fase do metabolismo não mais é regulada pela insulina mas por outros hormônios, principalmente o glucagon e as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina).

O glucagon, um hormônio peptídico com 29 resíduos de aminoácidos, é sintetizado e liberado pelas células α das ilhotas pancreáticas quando a concentração da glicose sanguínea começa a cair abaixo de 5 mM. De modo diferente da insulina, o glucagon estimula o fígado para liberar a glicose produzida pela glicogenólise e gliconeogênese, e estimula a lipólise no tecido adiposo para liberar os ácidos graxos para a circulação. As células musculares não apresentam receptores para o glucagon e, portanto, não responde ao hormônio.

Apesar dos mecanismos de transdução de sinais diferirem um pouco, as catecolaminas promovem os mesmos efeitos gerais que o glucagon. Por exemplo, o estímulo da adrenalina sobre as células musculares ativa a glicogenólise, que disponibiliza mais glicose para a contração muscular. As catecolaminas são derivadas da tirosina e sintetizadas pelo sistema nervoso central como neurotransmissores ou pela medula adrenal como hormônios. As ações das catecolaminas são mediadas por duas classes de receptores na superfície celular, os receptores α -adrenérgicos e os β -adrenérgicos.

Os receptores do glucagon e os receptores adrenérgicos, tais como, o receptor β -adrenérgico, são glicoproteínas transmembranas que possuem *sete α -hélices transmembranas* (receptores serpenteantes). Esses receptores possuem uma extremidade N-terminal extracelular que contém o local de ligação do hormônio (sete seqüências de 20–25 resíduos hidrofóbicos cada) que formam três alças extracelulares e três alças intracelulares além de uma porção no lado citosólico da membrana plasmática na qual a proteína G particular se liga. Os receptores do glucagon e das catecolaminas não são tirosina-cinases, mas a ligação desses hormônios desencadeiam alterações conformacionais que afetam a porção intracelular da proteína. Acredita-se que esses receptores atuam como proteínas alostéricas que alternam entre duas conformações, em resposta ao ligante ligado.

Proteínas G: mediadores intracelulares

No interior das células, uma proteína trimérica conhecida como *proteína G* interage com a porção intracelular de receptores. As proteínas G são assim chamadas por que ligam GDP e GTP. Os três tipos de subunidades da proteína G são designadas α , β e γ . Na forma inativa, a proteína G existe como um trímero ligado a GDP pela subunidade α . A ligação de um ligante a um receptor apropriado desencadeia uma alteração conformacional da proteína G, que é provavelmente mediada por uma extensão C-terminal da subunidade α . Como resultado, a subunidade α libera a GDP e, em seguida, liga a GTP em seu lugar. O terceiro grupo fosfato da GTP não é facilmente acomodado no trímero $\alpha\beta\gamma$, de tal modo que a subunidade α se dissocia dos componentes $\beta\gamma$, que permanecem fortemente ligados como um dímero. *Uma vez dissociados, tanto a subunidade α_{GTP} como o dímero $\beta\gamma$ tornam-se ativos; ou seja, eles interagem com componentes celulares na via de transdução de sinal.*

A atividade sinalizadora da proteína G está limitada pela atividade da *GTPase* intrínseca da subunidade α , que hidrolisa GTP a GDP + P_i. A hidrólise do GTP permite que as três subunidades da

proteína G retornem à sua conformação original ($\alpha_{\text{GDP}}\beta\gamma$) (Figura 12.2).

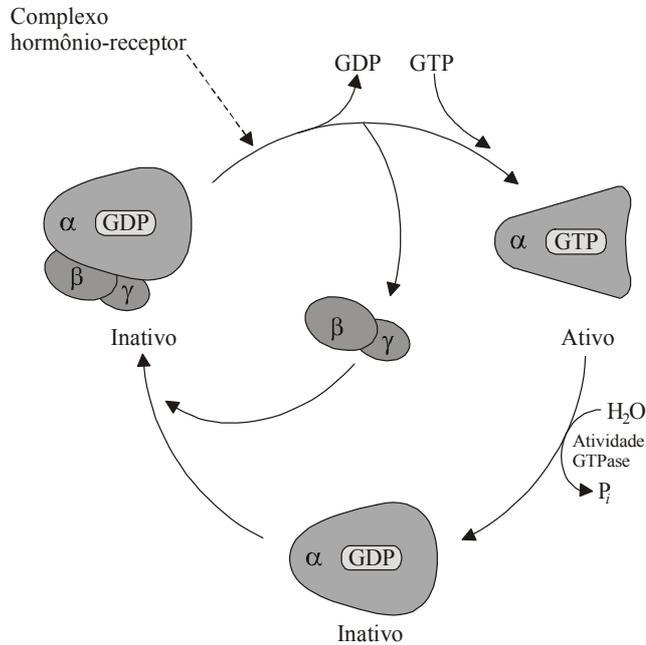


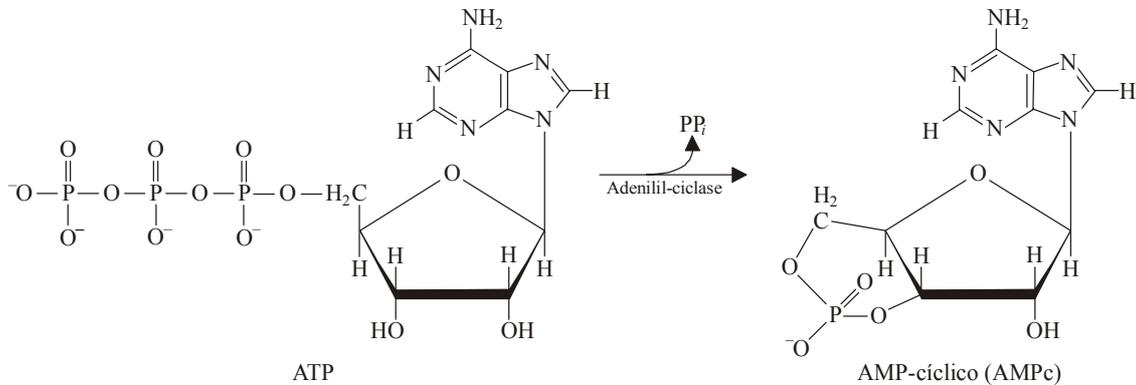
Figura 12.2

Ciclo da proteína G. O trímero $\alpha\beta\gamma$, com o GDP ligado a subunidade α , é inativo. A ligação do ligante ao receptor associado com a proteína G desencadeia modificações conformacionais que causam a substituição do GDP pelo GTP e a subunidade α se dissocia do dímero $\beta\gamma$. As duas porções da proteína G são ativas na via de sinalização. A atividade da GTPase da subunidade α retorna a proteína G a sua forma trimérica inativa.

O nucleotídeo GDP ligado à proteína G trimérica dissocia com uma velocidade basal de cerca de 10^{-5} s^{-1} , o que significa que a ativação fisiológica da proteína G (a liberação de GDP e a ligação de GTP) pode levar horas. *In vivo*, a troca de GDP pelo GTP ocorre em menos de um segundo pela ajuda de proteínas conhecidas como GEFs (*guanine nucleotide exchange factors*). De modo similar, a velocidade catalítica GTPase é muitas vezes aumentada por proteínas acessórias conhecidas como GAPs (*GTPase activating proteins*), que impulsionam a atividade da GTPase de cerca de $2\text{--}4 \text{ min}^{-1}$ para, aproximadamente, $10^2\text{--}10^3 \text{ min}^{-1}$.

Via adenilil-ciclase

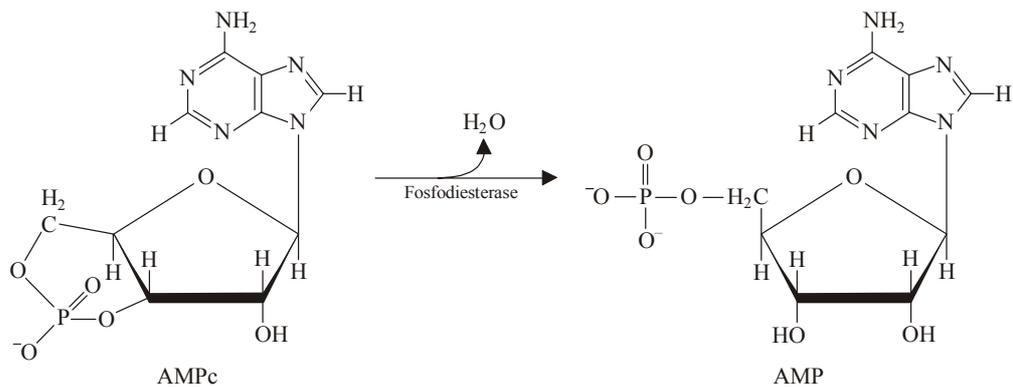
As subunidades separadas α_{GTP} e $\beta\gamma$ exercem diferentes efeitos sobre as proteínas celulares. Por exemplo, a subunidade α_{GTP} liga e ativa alostericamente a enzima *adenilil-ciclase*, uma proteína integral presente na superfície interna da membrana que catalisa a síntese de AMP cíclico (AMPC) a partir de ATP:



O sítio catalítico da adenilil-ciclase inclui duas cadeias laterais Asp também como íons metálicos (provavelmente Mg^{2+}) que coordena com os dois resíduos Asp e os grupos fosfato do ATP.

O AMPc é um segundo mensageiro, uma substância pequena e altamente solúvel que pode livremente difundir na célula. O AMPc ativa uma Ser/Thr cinase chamada *proteína-cinase A*. Na ausência de AMPc, essa cinase é um tetrâmero inativo formado por duas subunidades reguladoras (R) e duas catalíticas (C)

Consequentemente, o nível de segundo mensageiro AMPc determina o nível de atividade da proteína-cinase A. O sinal AMPc (e portanto, a atividade da proteína-cinase A) é desligado pela ação da fosfodiesterase que converte o AMPc em AMP:



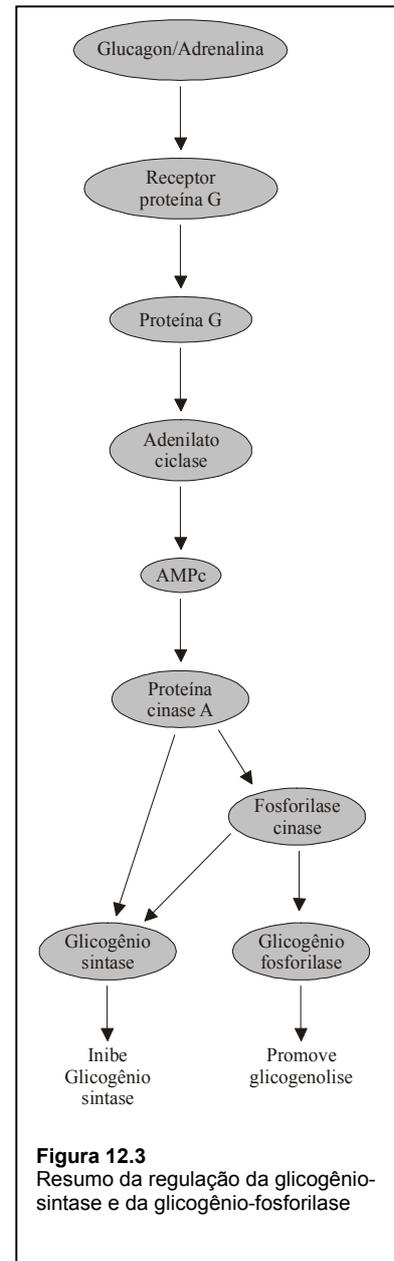
Um dos alvos intracelulares da proteína-cinase A é a *fosforilase-cinase*, a enzima que fosforila (desativa) a glicogênio-sintase e fosforila (ativa) a glicogênio-fosforilase. Os eventos sinalizadores explicam como hormônios como o glucagon e adrenalina, que desencadeiam a produção de AMPc, promovem a glicogenólise e inibem a síntese do glicogênio. Embora a fosforilase-cinase seja ativado pela proteína-cinase A, ela só é ativada ao máximo quando os íons Ca^{2+} estão presentes como resultado de outras vias sinalizadoras (*ver adiante*).

Os receptores com sete hélices transmembranas, modificam a sua conformação em resposta ao estímulo externo a, assim, ativam as proteínas G. Esses receptores são responsáveis pela transmissão de informações provenientes de diferentes sinais.

A estimulação da adenilil-ciclase pela proteína G é de curta duração, pois a subunidade G_α é também uma GTPase que hidrolisa o GTP a GDP + P_i . Em função da ação da GTPase da subunidade G_α , a atividade da adenilil-ciclase depende da estimulação hormonal contínua, cessando em ausência do hormônio. Isso é fundamental para o segundo mensageiro que uma vez gerado deve ser desativado rapidamente.

As proteínas alvo afetados pelo AMPc dependem do tipo de célula. Além disso, vários hormônios podem ativar a mesma proteína G. Portanto, diferentes hormônios podem realizar o mesmo efeito. Por exemplo, em células hepáticas a degradação do glicogênio pode ser iniciada tanto pela adrenalina como pelo glucagon.

Além das proteínas G que ativam a adenilil-ciclase, existem proteínas G inibitórias que promovem a redução dos níveis de AMPc por ligação em diferentes sítios da proteína adenilil-ciclase. Assim, o mesmo hormônio pode criar efeitos estimuladores pela ligação a um dos receptores mas também pode causar inibição por ligação a outro tipo de receptor. Outras proteínas G ativam a AMPc fosfodiesterase, produzindo efeitos similares nos processos dependentes de AMPc. Consequentemente, a resposta celular a um sinal hormonal não depende somente da presença do receptor apropriado, mas também se a proteína G associada está na forma ativada ou inibitória. Como um único tipo de hormônio pode ativar dois tipos de proteína G, o sistema sinalizador pode ser ativo somente por curtos períodos antes de ser desativado.



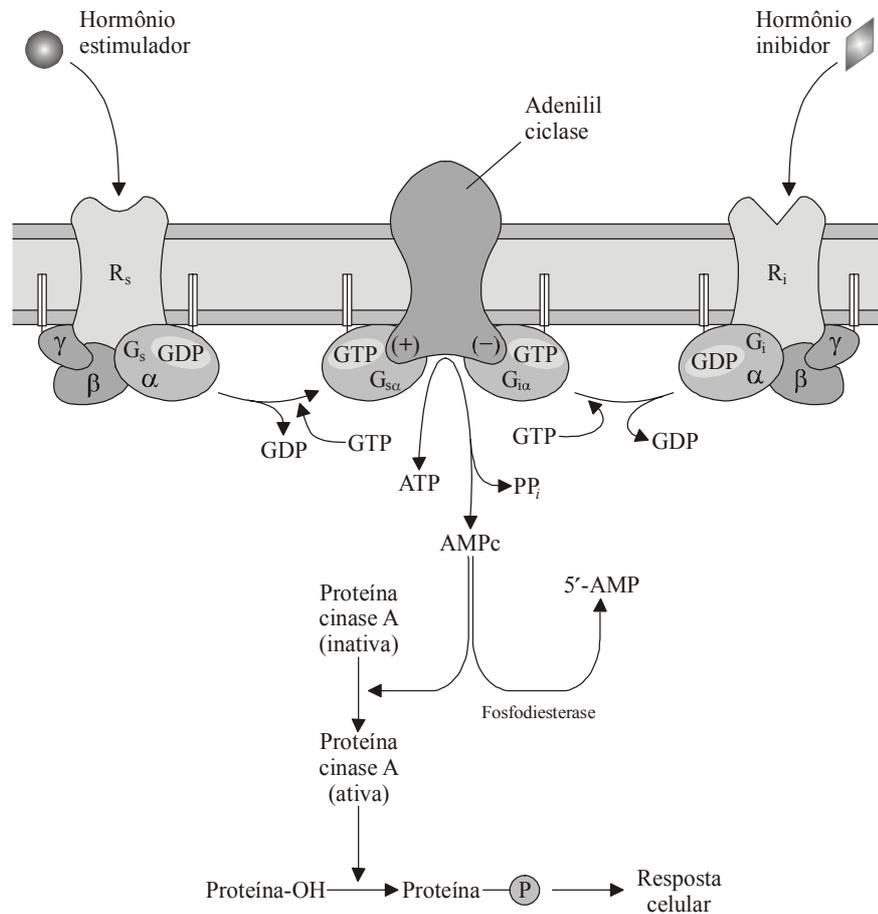


Figura 12.4

Sistema de sinalização da adenilil-ciclase. A ligação do hormônio ao receptor R_s promove sua ligação à proteína G estimuladora (G_s) que estimula a troca de GDP por GTP na sua subunidade $G_{s\alpha}$. Outros hormônios podem se ligar ao receptor inibitório (R_i) que está acoplado à adenilil-ciclase pela proteína G inibitória (G_i). A G_s ativa a adenilil-ciclase, enquanto a G_i inibe-a. O AMPc ativa a proteína-cinase A, resultando na fosforilação das proteínas celulares.

As proteínas G participam de outras vias de sinalização

Via guanilil-ciclase

Um dos importantes alvos das proteínas G é a guanilil-ciclase, enzima que catalisa a transformação de trifosfato de guanosina (GTP) em GMP cíclico (GMPC), um segundo mensageiro. Apesar da síntese de GMP cíclico ocorrer em quase todos os tecidos animais, seu papel no metabolismo celular ainda não foi plenamente esclarecido. Duas guanilil-ciclase estão envolvidas na transdução de sinal. Uma está ligada à membrana e atua como receptora de hormônio. A outra é uma enzima citoplasmática.

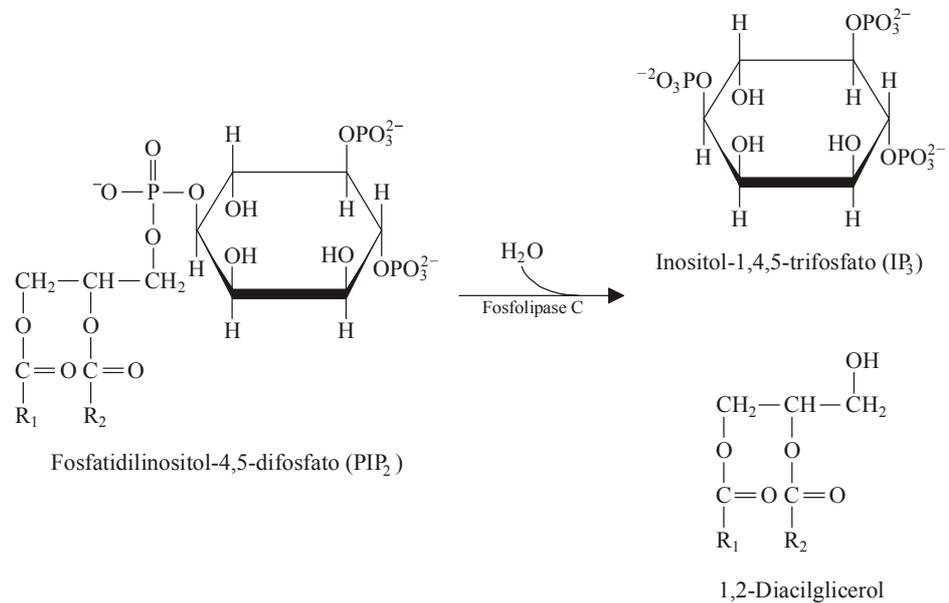
1. Guanilil–ciclase ligada à membrana. Dois tipos de moléculas ativam a guanilil–ciclase ligada à membrana: o fator natriurético atrial e a enterotoxina bacteriana.

- *Fator natriurético atrial (FNA).* É um peptídeo liberado das células atriais cardíacas em resposta ao volume de sangue. O efeito fisiológico do FNA é reduzir a pressão sangüínea via vasodilatação e diurese (aumento da excreção urinária) por meio do GMPc. O GMPc citosólico ativa a fosforilação da enzima proteína-cinase G. O papel dessa enzima na mediação dos efeitos do FNA ainda não foi esclarecido. O FNA ativa a guanilil–ciclase em vários tipos de células. Por exemplo, nos túbulos coletores renais, a síntese de GMPc estimulada pelo FNA, aumenta a excreção renal do Na^+ e água.
- *Enterotoxina bacteriana.* A ligação da enterotoxina (produzida por várias espécies de bactérias) à guanilil–ciclase encontrada na membrana plasmática das células intestinais causa diarreia. Por exemplo, determinadas linhagens de *E. coli* produzem uma *enterotoxina termolábil* (proteína semelhante à toxina da cólera). A interação da enterotoxina ao receptor plasmático do enterócito ligado a guanilil–ciclase desencadeia a excessiva secreção de eletrólitos e água no lúmen do intestino delgado.

2. Guanilil–ciclase citoplasmática. A guanilil–ciclase citoplasmática possui um grupo prostético heme. A enzima é ativada pelo Ca^{2+} , assim qualquer aumento do Ca^{2+} citoplasmático promove a síntese de GMPc. Essa guanilil–ciclase é ativada pelo *óxido nítrico* (NO). Algumas evidências sugerem que a ligação do NO ao grupo heme ativa a enzima. Em vários tipos de células (exemplo, células do músculo liso), a GMPc estimula o funcionamento dos canais de íons.

Sistema do fosfoinositídeo e cálcio

O sistema do fosfoinositídeo media a ação de hormônios, de fatores de crescimento e de outros ligantes. A adrenalina liga-se a um receptor conhecido como receptor α -adrenérgico que faz parte do *sistema fosfoinositídeo* que também é formado por um receptor com sete segmentos transmembrânicos, uma proteína G e uma proteína-cinase específica. A proteína G associada com o receptor α -adrenérgico ativa a enzima celular *fosfolipase C* ligada à membrana plasmática. A enzima ativa catalisa a clivagem do *fosfatidilinositol-4,5-difosfato* (PIP_2) para formar dois segundos mensageiros: o *1,2-diacilglicerol* (DAG) e o *inositol-1,4,5-trifosfato* (IP_3).



O PIP₂ está presente em pequenas quantidades mas pode ser sintetizado a partir do fosfatidilinositol-4-fosfato (PIP) que, por sua vez, é produzido a partir do fosfatidilinositol (PI) por fosforilação específica.

1. Diacilglicerol (DAC). O *1,2-diacilglicerol* é um segundo mensageiro lipossolúvel que permanece na membrana plasmática e ativa a *proteína-cinase C* (PKC). Foram identificadas várias proteínas-cinase C. Dependendo da célula, a proteína-cinase C ativada fosforila enzimas reguladoras específicas ativando-as ou inativando-as. São conhecidas no mínimo 11 diferentes isoformas de proteínas-cinases C presentes em diferentes tecidos.

Em baixas concentrações de íons Ca²⁺ e em ausência de DG, as PCKs são inativas. A ligação da DG causa uma alteração conformacional que aumenta a afinidade das PCKs pelos íons Ca²⁺ e DG. Ao ligar-se à membrana plasmática, a isoenzima torna-se ativada.

2. Inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃). O *inositol-1,4,5-trifosfato* é hidrossolúvel e se difunde desde a membrana através do citoplasma para interagir com receptores específicos do retículo endoplasmático onde se liga a um *canal de transporte de Ca²⁺* abrindo-o e liberando o Ca²⁺ para o citosol. O efluxo dos íons cálcio dos depósitos no retículo endoplasmático induz uma modificação conformacional no receptor IP₃ que causa a abertura dos canais íons Ca²⁺ da membrana plasmática e, assim, desencadeia vários processos celulares. O principal receptor protéico para os íons Ca²⁺ é a *calmodulina* – uma proteína que se liga ao Ca²⁺. Os complexos cálcio-calmodulina são capazes de mediar muitas reações reguladas pelo cálcio. De fato, a calmodulina é a subunidade reguladora de algumas enzimas (exemplo, a fosforilase-cinase, que converte a fosforilase *b* em fosforilase *a* no metabolismo do glicogênio).

A transmissão do sinal é encerrada pela defosforilação do IP₃ pela ação hidrolítica da *inositol-trifosfatase* para formar

inositol-1,4-bisfosfato. Os íons Ca^{2+} podem retornar aos seus estoques intracelulares pela ação de uma Ca^{2+} -ATPase às custas da hidrólise de ATP.

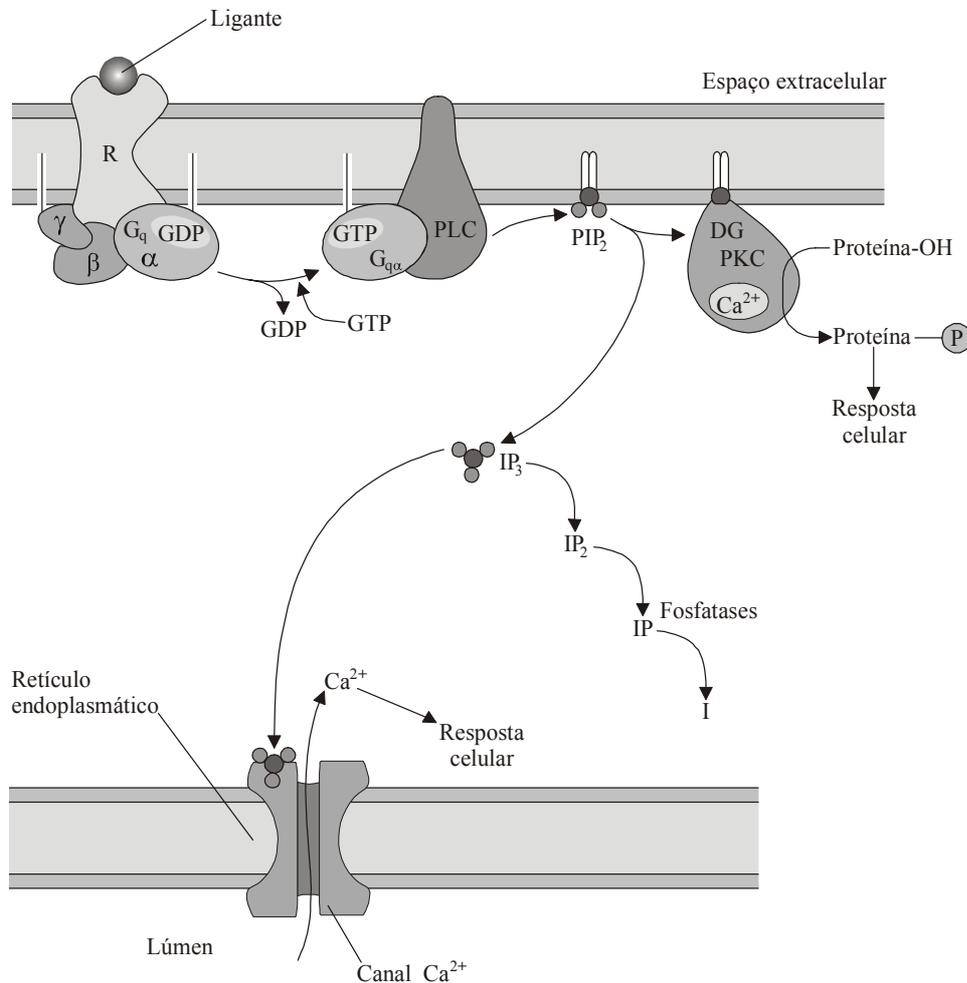


Figura 12.5

Sistema de sinalização do fosfoinosítideo. A ligação do ligante a seu receptor transmembrana R ativa a fosfolipase C (PLC) por meio da proteína G_q . A fosfolipase C catalisa a hidrólise de PIP_2 nos segundos mensageiros IP_3 e diacilglicerol (DG). O IP_3 hidrossolúvel difunde do citoplasma para o retículo endoplasmático onde estimula a liberação do Ca^{2+} que vai ativar, via calmodulina, numerosos processos celulares. O diacilglicerol permanece associado à membrana, onde – juntamente como o Ca^{2+} – ativa a proteína-quinase C (PKC), que fosforila e modula muitas proteínas celulares.

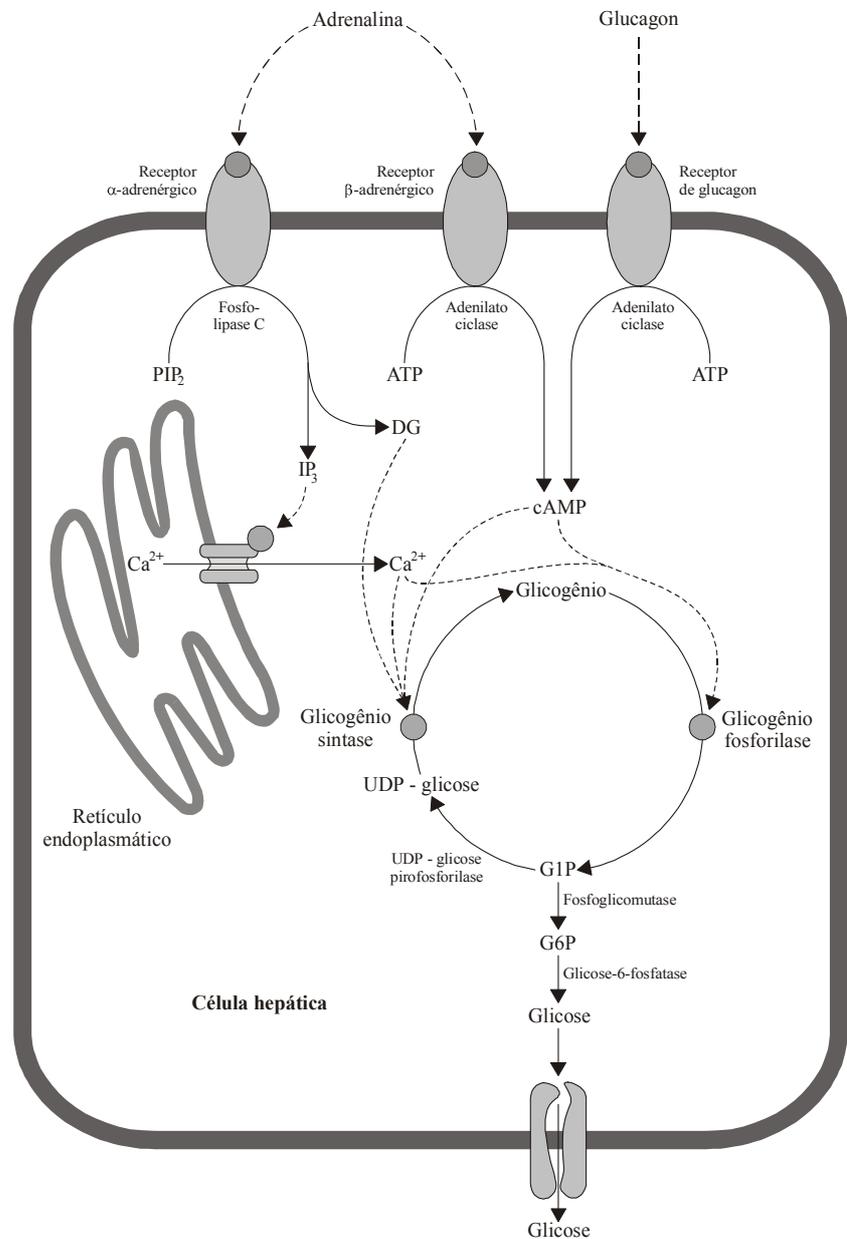


Figura 12.6
Visão geral da ação da adrenalina e glucagon no metabolismo do glicogênio.
 PIP₂ = fosfatidilinositol-4,5-bifosfato, IP₃ = inositol-1,4,5-trifosfato, DG = 1,2-diacilglicerol

D. Hormônios esteróides e tireoideanos

Os mecanismos de transdução de sinal das moléculas de hormônios hidrofóbicos resultam em modificações na expressão gênica. Os hormônios esteróides e tireoideanos são moléculas hidrofóbicas e lipossolúveis transportadas pelo sangue ligadas a diferentes proteínas. Os transportadores de esteróides incluem a *globulina de ligação a corticoesteróides* (CBG,

corticosteroid-binding globulin) ou *transcortina*, a *globulina de ligação a hormônios sexuais* (SHBG, sex hormone binding globulin), a *proteína de ligação a andrógeno* (BPP, androgen binding protein) e a *albumina*. Os hormônios tireoideanos são transportados pela globulina transportadora de tiroxina, pré-albumina transportadora de tiroxina e albumina.

Ao atingir as células-alvo, as moléculas de hormônios hidrofóbicos se dissociam de suas proteínas transportadoras e difundem através das membranas plasmáticas para ligarem-se aos receptores intracelulares específicos. O complexo hormônio-receptor interage com fatores de transcrição alterando a expressão gênica e afetando, assim, a síntese protéica. Enquanto os hormônios polipeptídeos e as catecolaminas efetuam alterações rápidas (dentro de segundos ou minutos) por meio de ativação ou inibição de enzimas pré-existentes, a ação dos hormônios esteróides e tireoideanos é observada em prazos mais longos (dias ou semanas).

A atividade dos hormônios hidrofóbicos é limitada nas células eucarióticas pela presença de moléculas receptoras. Os hormônios podem difundir para células não-alvo, mas em ausência de moléculas receptoras apropriadas, não exercem suas atividades. Nos tecidos-alvo, dependendo do tipo de hormônio envolvido, a interação pode ocorrer no citoplasma (exemplo, glicocorticóides) ou no interior do núcleo (exemplo, estrogênios, androgênios e hormônios tireoideanos):

- *Receptores glicocorticóides* presentes principalmente no citoplasma das células-alvo e complexados a proteínas que se ligam ao DNA para a regulação da transcrição.
- *Receptores do estradiol e progesterona* são predominantemente encontrados no núcleo.
- *Receptores de hormônios tireoideanos* estão sempre ligados ao DNA.

Os receptores hormonais intracelulares existem em níveis ao redor de 100–10.000 moléculas por célula e apresentam grande afinidade por seu ligante.

Dentro do núcleo, cada complexo hormônio esteróide-receptor liga-se a segmentos específicos do DNA chamados *elementos de resposta a hormônios* (HRE), cuja “seqüência de consenso” consiste de duas seqüências de seis nucleotídeos separados por três nucleotídeos (n). As seqüências de consenso no DNA de resposta aos glicocorticóides e progesterona são:

AGAACAnnnTGTTCT
TCTTGtnnnACAAGA

Os dímeros receptores interagem com fatores de transcrição, outras proteínas ligadoras de DNA e cofatores para afetar a transcrição do gene-alvo no mRNA o qual serve como um modelo para a síntese ribossômica das proteínas. Estima-se que cada tipo de HRE pode influenciar a transcrição de 50–100 genes. Conseqüentemente, a ligação de um complexo hormônio esteróide-receptor a seu HRE induz alterações em larga escala na função celular.

O *estradiol* liga-se ao complexo receptor–hsp (hsp: proteína de choque térmico) fracamente associado com o núcleo. Após a dissociação e a dimerização do receptor, o dímero receptor liga-se ao HRE, cuja seqüência de consenso é:

AGGTCAnnnTGACCT
TCCAGTnnnACTGGA

Segue-se a transcrição e a síntese das proteínas.

Após entrar na célula, os *hormônios tireoideanos* ligam-se temporariamente a proteínas específicas citoplasmáticas. As moléculas dos hormônios migram para o núcleo e mitocôndria onde interagem com receptores. No núcleo, a ligação dos hormônios tireoideanos inicia a transcrição de genes que exercem papéis fundamentais em vários processos celulares, como aqueles que codificam o hormônio de crescimento e a $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$. Na mitocôndria, os hormônios tireoideanos promovem o consumo de oxigênio e o aumento da oxidação dos ácidos graxos.

E. Fatores de crescimento

A sobrevivência dos organismos multicelulares necessita que a proliferação e a diferenciação celular seja rigorosamente controlada. As condições que regulam esses processos não estão ainda completamente esclarecidas. Entretanto, uma variedade de polipeptídeos e proteínas hormônios–like, denominados *fatores de crescimento* (ou *citocinas*), parecem regular o crescimento, a diferenciação e a proliferação de várias células. Muitas vezes, a ação de vários fatores de crescimento é necessária para promover respostas celulares. Os fatores de crescimento diferem dos hormônios por serem sintetizados em vários tipos de células e não somente nas células endócrinas. Exemplos de fatores de crescimento em mamíferos incluem o *fator de crescimento epidérmico* (EGF), *fator de crescimento derivado das plaquetas* (PDGF) e as somatomedinas. Moléculas similares como as interleucinas, que promovem a proliferação e diferenciação celular no sistema imune, também são consideradas citocinas. Várias moléculas supressoras do crescimento também foram caracterizadas. Os mecanismos pelos quais as citocinas exercem seus efeitos ainda são motivos de estudo. Alguns aspectos da ação das citocinas foram identificados e lembram aqueles observados para os hormônios.

1. Fator de crescimento epidérmico (EGF). É um *mitógeno* (estimulador da divisão celular) para um grande número de células epiteliais, como as epidérmicas e de revestimento gastrointestinal. O EGF desencadeia a divisão celular quando se liga aos receptores EGF da membrana plasmática, que são tirosinas–cinases estruturalmente semelhantes aos receptores de insulina (*ver acima*).

2. Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). É secretado pelas plaquetas sangüíneas durante o processo de coagulação. Atuando com o EGF, o PDGF estimula o processo mitogênico nos fibroblastos e em outras células vizinhas durante a cura de ferimentos. O PDGF também promove a síntese de colágeno nos fibroblastos.

3. Somatomedinas. São polipeptídeos que mediam as ações promotoras de crescimento do GH (hormônio do crescimento). Produzidas no fígado e em outros órgãos (exemplo, músculo, fibroblasto, osso e rim) quando o GH se liga ao seu receptor na superfície celular, as somatomedinas estimulam o crescimento animal. As somatomedinas também promovem os mesmos processos metabólicos realizados pela insulina (exemplo, transporte de glicose e síntese de gorduras). Por essa razão, as duas somatomedinas encontradas em humanos são chamadas *fatores de crescimento I e II semelhantes à insulina* (IGF-I e IGF-II). Como outros fatores de crescimento polipeptídicos, as somatomedinas desencadeiam processos intracelulares pela ligação a receptores na superfície celular. Os receptores da somatomedina são tirosina-cinases.

4. Interleucina-2 (IL-2). É uma grupo de *citocinas* – pequenas proteínas liberadas por várias células do organismo, normalmente em resposta a um estímulo ativador – que regulam o sistema imune além de promover o crescimento e a diferenciação celular. A IL-2 é derivada de linfócitos T auxiliares que causa proliferação dos linfócitos T e linfócitos B ativados. As células são também estimuladas a produzir receptores de IL-2. A união da IL-2 aos receptores deflagra a divisão celular para a produção de numerosas células T idênticas. Esse processo, também como outros aspectos da resposta imune, continua até que o antígeno seja eliminado do corpo. O fármaco imunossupressor ciclosporina A inibe a produção de IL-2 suprimindo respostas indesejáveis, tais como a rejeição de enxertos.

5. Citocinas inibidoras do crescimento. Os *interferons* são uma classe de pequenas citocinas protéicas e glicoproteínas, produzidas pelas células T, pelos fibroblastos e por outras células em resposta a infecções virais e outros estímulos biológicos e sintéticos. Os interferons ligam-se a receptores específicos nas membranas celulares; seus efeitos consistem em indução de enzimas, supressão da proliferação celular, inibição da proliferação viral, intensificação da atividade fagocítica dos macrófagos e aumento da atividade citotóxica dos linfócitos T. Os interferons são divididos em cinco grandes classes (alfa, beta, gama, tau e ômega) e várias subclasses. Os *fatores de necrose tumoral* (TNF) são tóxicos para as células tumorais. Tanto o TNF- α (produzido pelos leucócitos fagocíticos antígeno-ativados) e o TNF- β (produzido por células T ativadas) suprimem a divisão celular. Também exercem vários papéis na regulação de vários processos de desenvolvimento.

12.3 Compartimentalização

Muitas vias anabólicas e catabólicas estão confinadas a diferentes compartimentos celulares. Nas células hepáticas, a biossíntese dos ácidos graxos a partir da acetil-CoA ocorre no citosol onde as enzimas para a biossíntese e para a geração de NADPH estão localizadas. A degradação dos ácidos graxos (β -oxidação) ocorre no interior da mitocôndria onde as enzimas apropriadas e os processos para a fosforilação oxidativa estão presentes. Assim, a biossíntese e a degradação dos ácidos graxos ocorrem em diferentes compartimentos.

A realização de reações em compartimentos específicos (matriz mitocondrial e citosol) requer mecanismos para transportar substâncias através das membranas. Os dois mecanismos principais de transporte são:

- *Sistemas de transporte.* Utilizam proteínas transportadoras específicas que medeiam os movimentos transmembrana entre a mitocôndria e citosol de pequenos íons inorgânicos, piruvato, carnitina/acil-carnitina, citrato, aspartato, malato, adenina nucleotídeo, citrulina e ornitina.
- *Sistemas de lançadeiras (circuitos).* Os grupos funcionais ou átomos em lugar de moléculas, atravessam a membrana. O grupo funcional é transferido para um composto que é transferido para outro compartimento, ex.: lançadeira malato-aspartato em que os elétrons do NADH citosólico são transportados para a mitocôndria.

Resumo

1. Os hormônios são moléculas que transferem informações entre as células. Para assegurar o controle do metabolismo, a síntese e a secreção da maioria dos hormônios nos mamíferos são regulados por um complexo mecanismo em cascata controlado pelo SNC. Além disso, o mecanismo de retro-alimentação negativa controla com precisão a síntese de vários hormônios.
2. Fatores de crescimento (ou citocinas) são polipeptídeos que regulam o crescimento, a diferenciação e proliferação celular. Eles diferem dos hormônios por serem produzidos por vários tipos de células em lugar de células glandulares especializadas.
3. Os hormônios e fatores de crescimento transmitem sinais regulatórios para as células-alvo por meio da ligação a receptores específicos. Hormônios solúveis em água tipicamente se ligam a receptores na superfície das células-alvo para produzir respostas no interior das células. Eles alteram a atividade de várias enzimas e/ou mecanismos de transporte.
4. Os segundos mensageiros AMPc, GMPc, IP₃, DAG e Ca²⁺ muitas vezes mediam a mensagem hormonal ou de fatores de crescimento.
5. O sistema de sinalização do AMPc consiste de um receptor, de uma proteína G, da adenilil-ciclase e de uma proteína-cinase dependente de AMPc.
6. No sistema do fosfoinositídeo, a ligação do hormônio provoca a hidrólise do fosfatidil-4,5-difosfato (PIP₂), produzindo inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃), que abre canais de Ca²⁺, e diacilglicerol (DG), que ativa a proteína-cinase C.
7. De modo geral, os hormônios da tireóide e esteróides hidrofóbicos ligam-se a receptores intracelulares. O complexo hormônio-receptor subsequentemente liga-se a segmentos específicos de DNA chamados elementos de resposta a um hormônio (HRE). A ligação de um complexo hormônio-receptor a um HRE aumenta ou diminui a expressão de genes específicos.
8. A insulina, sintetizada pelo pâncreas em resposta à glicose, liga-se ao receptor tirosina-cinase. A resposta celular à insulina é a captação de glicose e ácidos graxos.

Referências

- BLACKSTOCK, J. C. **Biochemistry**. Oxford: Butterworth, 1998. p. 164-91.
- CANTLEY, L.C. The phosphoinositide 3-kinase pathway. **Science**, **296**:1655-7, 2002.
- LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 1995. p. 269-96.
- STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996. p. 419-36.
- VOET, D., VOET, J.G., PRATT, C.W. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000. p. 353-81.
- Website: <http://www.copewithcytokines.de/>