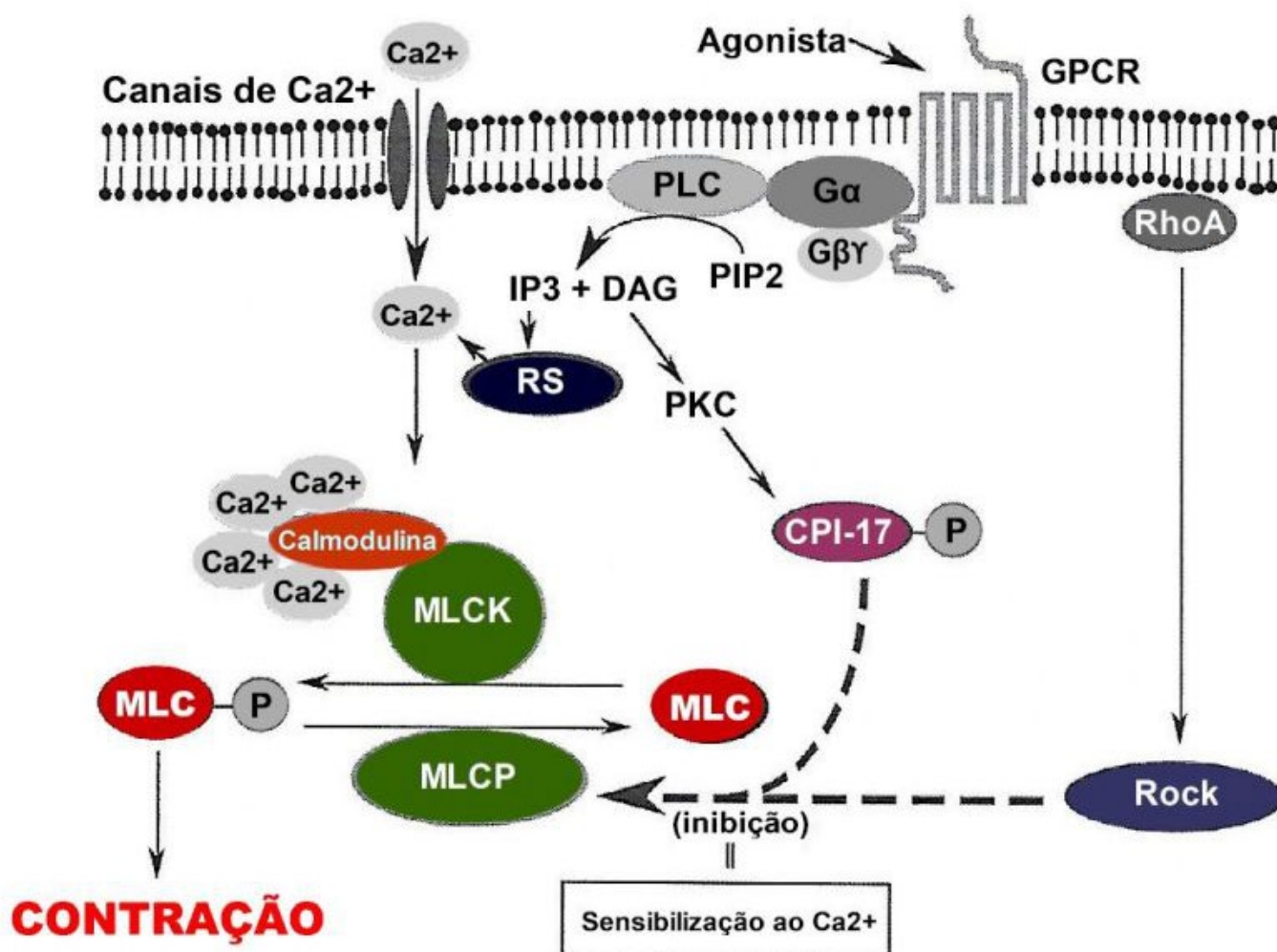


# Asma Brônquica

## Regulação da Contração das Células Musculares Lisas das Vias Aéreas

A contratilidade exacerbada das células musculares lisas das vias aéreas de asmáticos é uma característica da asma e foi bem demonstrada por Ma et al. através de células isoladas por meio de biópsias endobrônquicas. Aumentos estatisticamente significativos na capacidade máxima de encurtamento foram encontrados em células de músculo liso brônquico de indivíduos com asma em comparação às células normais.<sup>1</sup>

A contração do músculo liso brônquico decorre da interação de inúmeros agonistas que determinam a broncoconstrição através de seus receptores acoplados à proteína G (GPCR), sendo a contração mediada por vias de sinalização intracelulares complexas, dentre elas:<sup>2-4</sup> (Figura 1)



**Figura 1 – Regulação da Contração do Músculo Liso**

DAG, diacilglicerol; GPCR, receptores acoplados à proteína G; IP3, trifosfato de inositol; MLC, cadeia leve de miosina; MLCK, quinase de cadeia leve de miosina; MLCP, fosfatase de cadeia leve de miosina; PKC, proteína quinase C; PLC, fosfolipase C; PIP2, fosfatidilinositol-4,5-bifosfato; ROCK, RHO-associated, Coiled-coil Containing Protein Kinase ou Rho-quinase (Rho quinase; RhoA, família Rho pequena GTPase A); RS, retículo sarcoplasmático. Figura retirada e modificada de **Chiba Y et al. J Pharmacol Sci. 2010; 114:239-47.**

1 – Após o acoplamento a ativação do receptor pelos agonistas causa alterações conformacionais do receptor, resultando na dissociação das proteínas G heterotriméricas associadas ao receptor e das subunidades  $G\alpha$  das subunidades  $G\beta$  e  $G\gamma$ . Posteriormente, as subunidades  $G\alpha$  ( $G\alpha_q$  11,  $G\alpha_{12}$  e/ou  $G\alpha_{13}$ ) destas proteínas G ativam a fosfolipase C (PLC). A PLC hidrolisa o fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) resultando na geração de dois segundos mensageiros – o inositol 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>) e o diacilglicerol (DAG). O IP<sub>3</sub> se liga aos seus receptores IP<sub>3</sub>R que controlam muitos processos celulares, gerando sinais internos de cálcio no retículo sarcoplasmático (RS), iniciando sua liberação do RS para o citoplasma.<sup>2,5</sup> A liberação de  $Ca^{2+}$  ocorre de modo oscilatório e se propaga ao longo da célula na forma de uma onda de  $Ca^{2+}$ . O  $Ca^{2+}$  se liga à calmodulina (CaM), uma proteína reguladora, e o aumento do  $Ca^{2+}$  citosólico forma o complexo homotetramétrico constituído por quatro subunidades, cada uma com peso molecular de cerca de 260 kDa.<sup>6</sup> O complexo  $4Ca^{2+}$  – calmodulina – miosina quinase de cadeia leve (MLCK) em contrapartida abre e ativa o domínio enzimático da MLCK.<sup>4</sup> A atividade da quinase de cadeia leve de miosina (MLCK) é controlada pela elevação na concentração do  $Ca^{2+}$  citosólico proveniente do influxo de cálcio extracelular dos reservatórios do RS.

A capacidade contrátil das células musculares lisas presentes nas vias aéreas é primordialmente influenciada pela fosforilação da cadeia leve de miosina (MLC). Essa fosforilação é o evento-chave que desencadeia a ativação do mecanismo contrátil. O nível de fosforilação da MLC é meticulosamente controlado por meio da ação de duas enzimas cruciais: a cadeia leve de miosina quinase (MLCK) e a fosfatase de cadeia leve de miosina (MLCP).<sup>2</sup>

A MLCK se liga às moléculas de MLC nas fibras de miosina dentro da célula muscular lisa. Inicia-se a transferência de grupos fosfato de ATP (trifosfato de adenosina) para a MLC. Isso resulta na fosforilação da MLC – resíduo de aminoácido específico (serina 19) da subunidade reguladora da cadeia leve de 20 kDa de miosina – que é uma modificação química importante. A fosforilação promove a formação de pontes cruzadas com o filamento de actina e sofre transformações moleculares cíclicas, permitindo que os filamentos de miosina se liguem aos filamentos de actina encurtando<sup>7</sup> a célula muscular lisa, resultando na sua contração.<sup>2-4,8</sup> A subunidade ligada à miosina, quando fosforilada, inibe a atividade enzimática da MLCP, permitindo que a MLC se mantenha fosforilada, promovendo assim a *contração* do músculo liso.<sup>2,3,9,10</sup> **(Figura 1)**

Como resultado de um processo de homeostase, o aumento nos níveis citosólicos livres de  $Ca^{2+}$  é então rápido e praticamente revertido por uma recaptura no retículo sarcoplasmático/endoplasmático, basicamente mediada pela ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático/endoplasmático (SERCA), que reabastece assim as reservas intracelulares de  $Ca^{2+}$  previamente esgotadas.<sup>10</sup> Esse processo de transporte de cálcio pelo SERCA é fundamental para regular a concentração de cálcio no citoplasma, permitindo que as células musculares relaxem após a contração, controlando a liberação de cálcio durante a contração muscular e desempenhando papel importante em muitos outros processos celulares, como a sinalização celular e a homeostase de cálcio. A energia fornecida pela hidrólise do ATP é essencial para impulsionar esse processo.

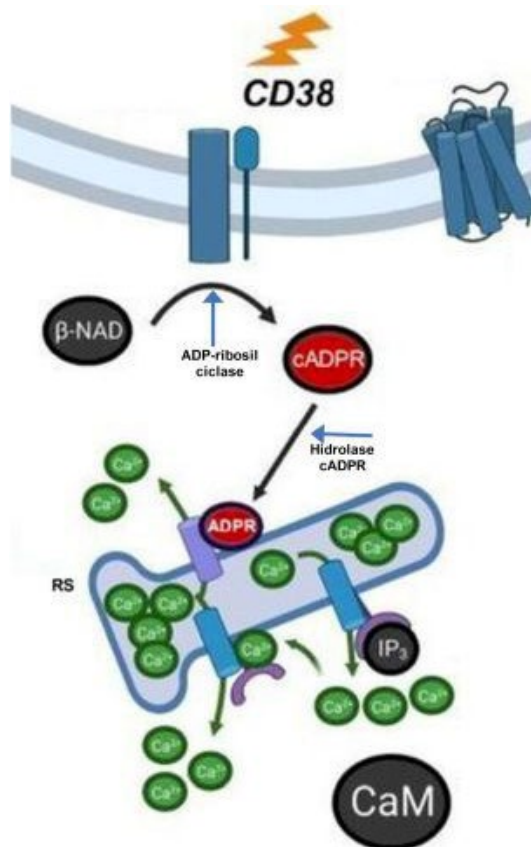
2 – A ativação do receptor acoplado à proteína G (GPCR) leva conjuntamente à elevação de RhoA e Rho quinase (ROCK), o que também conduz à subsequente inibição da MLCP.<sup>2,3,11</sup> A MLCP é uma serina (Ser)-treonina (Thr) fosfatase expressa no músculo liso cuja função é independente dos níveis de  $Ca^{2+}$ . A MLCP é a enzima responsável pela desfosforilação da MLC.

Portanto, a ação da MLCP, que remove os grupos fosfato da MLC, *relaxa* o músculo liso. A MLCP é uma enzima complexa composta por várias subunidades. As principais subunidades incluem a catalítica PP1c (Proteína Fosfatase 1 catalítica), as regulatórias *Myosin Phosphatase Target Subunit 1* (MYPT1) e MYPT2 e outras subunidades acessórias.<sup>12</sup> A atividade da MLCP é regulada por meio da fosforilação de sua subunidade MYPT1.

A Rho-quinase atua fosforilando a subunidade regulatória (ou subunidade M) da MLCP, a MYPT1. Em particular, a fosforilação de MYPT1 nos resíduos Ser<sup>507</sup>, Thr<sup>853/850</sup> e Thr<sup>696/695</sup> medeia a inibição da atividade de MLCP e, portanto, a inibição do relaxamento do músculo liso das vias aéreas.<sup>13</sup> Além disso, a fosforilação do MYPT1 em Ser<sup>965</sup>, Ser<sup>696</sup> e Ser<sup>852</sup> também é observada no músculo liso das vias aéreas. Essa fosforilação inibindo a MLCP promove assim o estado fosforilado da MLC<sup>4</sup> e, conseqüentemente, a contração do músculo liso. – *é a sensibilização ao  $Ca^{2+}$ . (Figura 1)* A via de sensibilização ao  $Ca^{2+}$  leva à contração máxima *sem levar em conta* a concentração intracelular de  $Ca^{2+}$ , pela regulação do estado de fosforilação da MLC pela MLCP.<sup>5</sup>

3 – A ativação da proteína quinase C (PKC) pelo diacilglicerol (DAG) leva à fosforilação da proteína inibidora da fosfatase potencializada pela proteína quinase C de 17 kDa (CPI-17), que se liga à subunidade catalítica da MLCP, e desativa a MLCP,<sup>2,14</sup> impedindo a desfosforilação da MLC — outra via da *sensibilização ao Ca<sup>2+</sup>*.

Além do IP<sub>3</sub>, a liberação de Ca<sup>2+</sup> do SR também é estimulada pela ativação do CD38 induzida por agonistas, produzindo ADP-ribose cíclica (ADPRc) que, presumivelmente, interage com receptores de rianodina (RyR). Com base nos dados acumulados na literatura, parece que a sinalização CD38/cADPR é uma via comum de regulação do cálcio intracelular para uma variedade de agonistas.



CD38 é uma glicoproteína monomérica, de 46 kDa, tipo II, com cauda citoplasmática curta no terminal NH<sub>2</sub> e em uma única região que atravessa a membrana e um longo domínio catalítico extracelular no terminal COOH.<sup>15</sup> É uma proteína bifuncional e possui atividades de ADP-ribosil ciclase e cADPR hidrolase.<sup>16,17</sup> Nas células musculares lisas das vias aéreas, o CD38 está associado à membrana plasmática. ADP-ribosil ciclase converte β-NAD em cADPR. cADPR é convertido em ADPR pela hidrolase cADPR. **(Figura 2)**

Estudos em células musculares lisas forneceram evidências de que a liberação de cálcio através dos canais do receptor de rianodina (RyR) é sensibilizada não apenas pelo cálcio, mas também pelo cADPR.<sup>18,19</sup> A atividade mobilizadora de cálcio do cADPR contribui para respostas de cálcio intracelular induzidas por agonistas no músculo liso das vias aéreas. CD38 é a principal fonte de síntese de cADPR no músculo liso das vias aéreas. O mecanismo pelo qual a estimulação do receptor acoplado à proteína G provoca a ativação do CD38 e a produção de cADPR não está perfeitamente compreendida, assim como o processo pelo qual o cADPR, gerado extracelularmente, entra na célula para provocar a liberação de cálcio intracelular.<sup>20</sup>

Além disso, esta via reguladora do cálcio contribui para alterações na homeostase do cálcio brônquico induzidas por citocinas inflamatórias e TH<sub>2</sub>, sugerindo um papel na patogênese da hiper-responsividade brônquica.

A GTPase Rac1 monomérica não desempenha um papel direto na contração das células musculares lisas das vias aéreas. Atua também em funções celulares importantes no citoesqueleto, na montagem correta da actina, como formação de lamelipódios, motilidade e migração que incluem células musculares lisas.<sup>21</sup> Entretanto, a ativação de Rac1 é responsável pelo aumento induzido por broncoconstritor no Ca<sup>2+</sup> intracelular, concentração e contração tanto em células musculares lisas brônquicas murinas quanto humanas, através de sua associação com PLC e estimulação da produção de IP<sub>3</sub>. A relevância desta via de sinalização em células de músculo liso de vias aéreas foi destacada ao demonstrar que Rac1 era superativado em células de músculo liso de vias aéreas de pacientes asmáticos, bem como em células de músculo liso de vias aéreas de camundongos desenvolvendo asma alérgica.<sup>22</sup>

[Anterior <<Adesão de Moléculas](#)

**Informações Médicas Home**

Design by Walter Serralheiro

[Próximo >>Resposta Tardia da Asma](#)

## Referências

- 01.Ma X, Cheng Z, Kong H, et al. Changes in biophysical and biochemical properties of single bronchial smooth muscle cells from asthmatic subjects. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283:L1181-9.
- 02.Hassoun D, Rose L, Blanc FX, Magnan A, Loirand G, Sauzeau V. Bronchial smooth muscle cell in asthma: where does it fit? *BMJ Open Respir Res* 2022; 9:e001351.
- 03.Delmotte P, Ressmeyer AR, Bai Y, Sanderson MJ. Mechanisms of airway smooth muscle relaxation

induced by beta2-adrenergic agonists. *Front Biosci* (Landmark Ed). 2010; 15:750-64.

04.Chiba Y, Matsusue K, Misawa M. RhoA, a possible target for treatment of airway hyperresponsiveness in bronchial asthma. *J Pharmacol Sci* 2010; 114:239-47.

05.Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993; 361:315-25.

06.Patel S, Joseph SK, Thomas AP. Molecular properties of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Cell Calcium* 1999; 25:247-64.

07.Sanderson MJ, Delmotte P, Bai Y, Perez-Zogbi JF. Regulation of airway smooth muscle cell contractility by Ca<sup>2+</sup> signaling and sensitivity. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:23-31.

08.Jude JA, Wylam ME, Walseth TF, Kannan MS. Calcium signaling in airway smooth muscle. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:15-22.

09.Bossé Y, Sobieszek A, Paré PD, Seow CY. Length adaptation of airway smooth muscle. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:62-7.

10.Pelaia G, Renda T, Gallelli L, Vatrella A, Busceti MT, Agati S, Caputi M, Cazzola M, Maselli R, Marsico SA. Molecular mechanisms underlying airway smooth muscle contraction and proliferation: implications for asthma. *Respir Med* 2008; 102:1173-81.

11.Swärd K, Mita M, Wilson DP, Deng JT, Susnjar M, Walsh MP. The role of RhoA and Rho-associated kinase in vascular smooth muscle contraction. *Curr Hypertens Rep* 2003; 5:66-72.

12.Álvarez-Santos MD, Álvarez-González M, Estrada-Soto S, Bazán-Perkins B. Regulation of Myosin Light-Chain Phosphatase Activity to Generate Airway Smooth Muscle Hypercontractility. *Front Physiol* 2020; 11:701.

13.Chen CP, Chen X, Qiao YN, Wang P, He WQ, Zhang CH, Zhao W, Gao YQ, Chen C, Tao T, Sun J, Wang Y, Gao N, Kamm KE, Stull JT, Zhu MS. In vivo roles for myosin phosphatase targeting subunit-1 phosphorylation sites T694 and T852 in bladder smooth muscle contraction. *J Physiol* 2015; 593:681-700.

14.Sakai H, Hirano T, Takeyama H, Chiba Y, Misawa M. Acetylcholine-induced phosphorylation of CPI-17 in rat bronchial smooth muscle: the roles of Rho-kinase and protein kinase C. *Can J Physiol Pharmacol* 2005; 83:375-81.

15.Sun L, Adebajo OA, Moonga BS, Corisdeo S, Anandatheerthavarada HK, Biswas G, Arakawa T, Hakeda Y, Koval A, Sodam B, Bevis PJ, Moser AJ, Lai FA, Epstein S, Troen BR, Kumegawa M, Zaidi M. CD38/ADP-ribosyl cyclase: A new role in the regulation of osteoclastic bone resorption. *J Cell Biol* 1999; 146:1161-72.

16.Lee HC, Galione A, Walseth TF. Cyclic ADP-ribose metabolism and calcium mobilization function. *Vit Horm* 1994; 48:199-258.

17.De Flora A, Franco L, Guida L, Bruzzone S, Zocchi E. Ectocellular CD38-catalyzed synthesis and intracellular Ca<sup>2+</sup>-mobilizing activity of cyclic ADP-ribose. *Cell Biochem Biophys* 1998; 28:45-62.

18.Kuemmerle JF and Makhlof GM. Agonist-stimulated cyclic ADP ribose. Endogenous modulator of Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> release in intestinal longitudinal muscle. *J Biol Chem* 1995; 270: 25488-25494.

19.Wang YX, Zheng YM, Mei QB, Wang QS, Collier ML, Fleischer S, Xin HB, and Kotlikoff MI. FKBP12.6 and cADPR regulation of Ca<sup>2+</sup> release in smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286:C538-C546.

20.Deshpande DA, Walseth TF, Panettieri RA, Kannan MS. CD38/cyclic ADP-ribose-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling contributes to airway smooth muscle hyper-responsiveness. *FASEB J* 2003; 17:452-4.

21.Li B, Wang R, Wang Y, Stief CG, Hennenberg M. Regulation of smooth muscle contraction by monomeric non-RhoA GTPases. *Br J Pharmacol* 2020; 177:3865-3877.

22.André-Grégoire G, Dilasser F, Chesné J, Braza F, Magnan A, Loirand G, Sauzeau V. Targeting of Rac1 prevents bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142:824-833.e3.

[Anterior << Adesão de Moléculasa](#)

Design by Walter Serralheiro

[Próximo >>Resposta Tardia da Asma](#)