

Asma

Regulação da Contração das Células Musculares Lisas das Vias Aéreas

A contratilidade muscular é definida como a relação instantânea entre força, velocidade, comprimento e tempo.¹ A contratilidade exacerbada das células musculares lisas das vias aéreas 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.²

A contração do músculo liso brônquico decorre da interação de inúmeros agonistas, incluindo a acetilcolina, histamina, endotelina-1 e bradicinina que determinam a broncoconstrição através de receptores acoplados à proteína G (GPCR), sendo a contração mediada por vias de sinalização intracelulares complexas, dentre elas:³⁻⁵ **(Figura 1)**

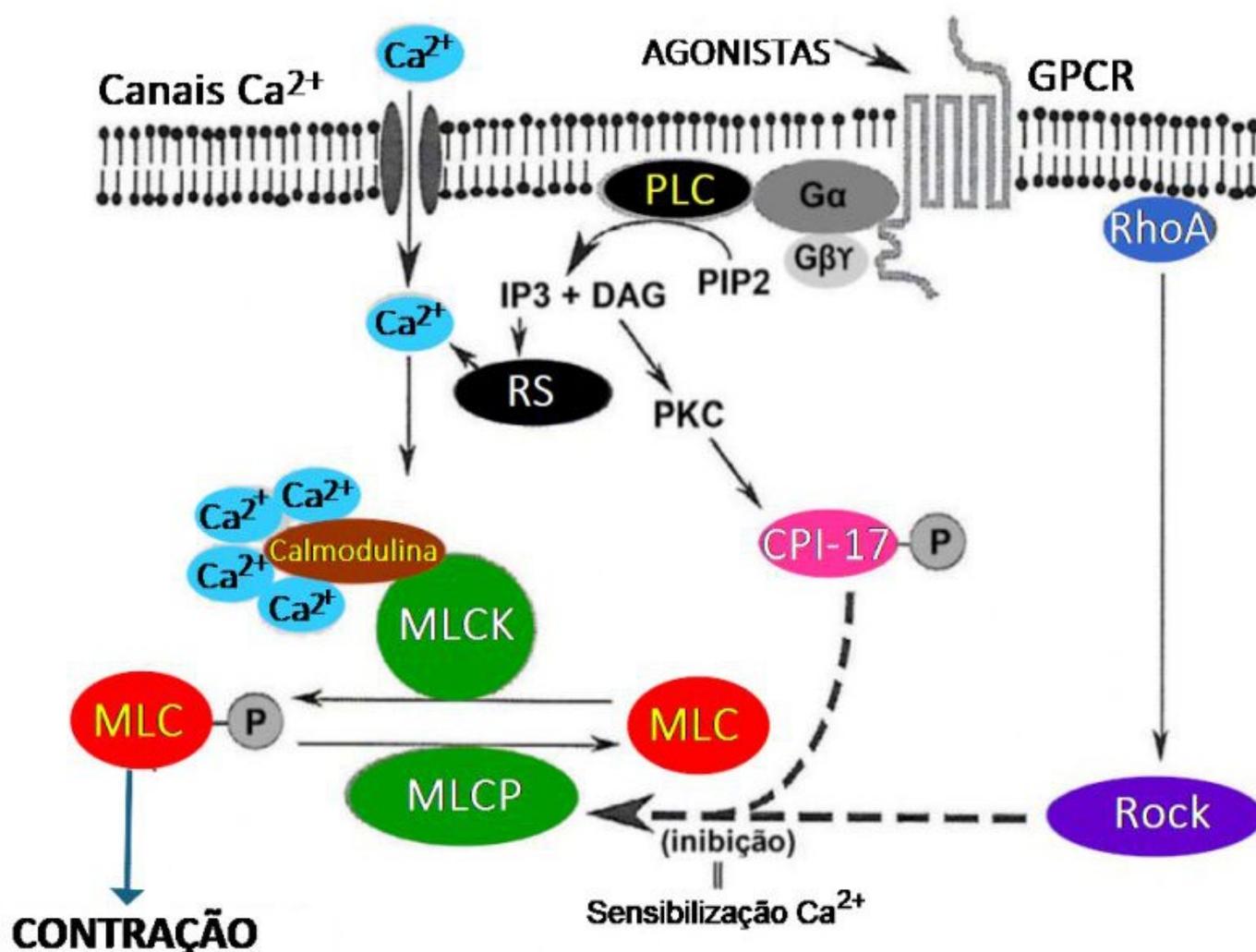


Figura 1 – Regulação da Contração do Músculo Liso

DAG, diacilglicerol; GPCR, receptor acoplado 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- Ao se ligar no receptor o agonista formará pontes de hidrogênio com aminoácidos específicos dentro da proteína receptora, determinando alteração conformacional que leva à ativação da proteína estimuladora G, designada de Gs (proteínas reguladoras de nucleotídeos Gs – guanina). A proteína G faz parte de uma família de proteínas homólogas e triméricas, consistindo em três subunidades — α , β e γ que parecem ancorar ou estabilizar a subunidade na membrana, mas também podem participar em mais eventos de sinalização de longo prazo. Dentre essas diversas formas, as subunidades G α (G $_{q11}$, G $_{q12}$ e/ou G $_{q13}$) destas proteínas G ativam a fosfolipase C (PLC).

A PLC hidrolisa o fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) resultando na geração de dois segundos mensageiros – o inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) e o diacilglicerol (DAG), promovendo a liberação de Ca $^{2+}$ do retículo sarcoplasmático.

O IP3 se liga aos seus receptores IP3R que controlam muitos processos celulares, gerando sinais internos de cálcio no retículo sarcoplasmático (RS), iniciando sua liberação do RS para o citoplasma.^{3,6} 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.⁷

O complexo 4Ca $^{2+}$ – calmodulina – miosina quinase de cadeia leve (MLCK) em contrapartida abre e ativa o domínio enzimático da MLCK.⁵ 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).³

O nível de fosforilação da MLC é meticulosamente controlado por meio da ação de duas importantes enzimas: a cadeia leve de miosina quinase (MLCK) e a fosfatase de cadeia leve de miosina (MLCP).

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 encurtando⁸ a célula muscular lisa, resultando na sua contração.^{3-5,9} 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.^{3,4,10,11} **(Figura 1)**

2- Após a hidrólise do fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) pela PLC o diacilglicerol ativa a proteína quinase C (PKC) que sequencialmente leva à fosforilação da proteína inibidora da fosfatase potencializada pela proteína quinase C de 17 kDa (**CIP-17**), para inibição do MLCP e favorecer a *contração*^{3,12} — outra via da *sensibilização ao Ca $^{2+}$* .

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.¹¹ 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.

3- A ativação do receptor acoplado à proteína G (GPCR) leva conjuntamente à elevação de RhoA e Rhoquinase (ROCK), o que também conduz à subsequente inibição da MLCP.^{3,4,12} 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.

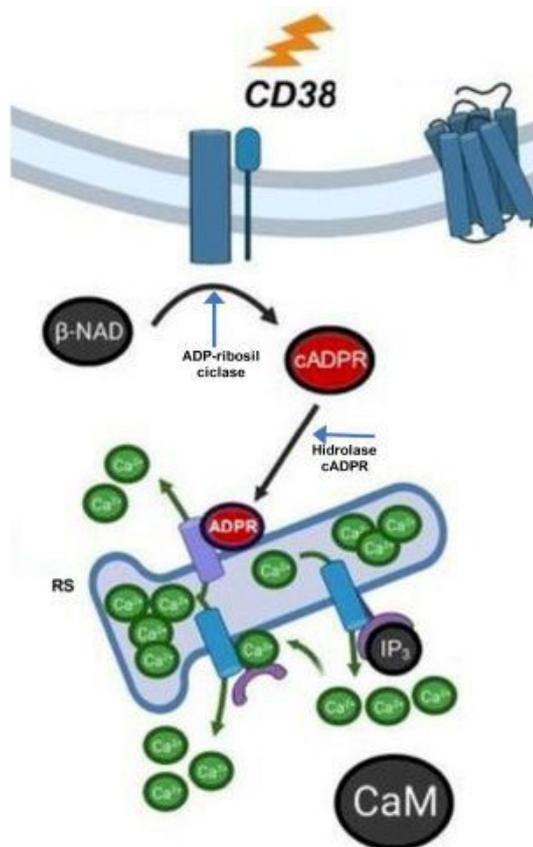
A MLCP é uma enzima complexa composta por várias subunidades. As principais subunidades incluem a catalítica PP1c (Proteína Fosfatase 1 catalítica), as regulatórias *Myosin Phosphatase Target Subunit 1* (MYPT1) e MYPT2 e outras subunidades acessórias.¹³ A atividade da MLCP é regulada por meio da fosforilação 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 Ser⁵⁰⁷, Thr^{853/850} e Thr^{696/695} medeia a inibição da atividade de MLCP e, portanto, a inibição do relaxamento do músculo liso das vias aéreas.¹⁴ Além disso, a fosforilação do MYPT1 em Ser⁹⁶⁵, Ser⁶⁹⁶ e Ser⁸⁵² também é observada no músculo liso das vias aéreas. Essa fosforilação inibindo a MLCP promove assim o estado fosforilado da MLC⁵ e, conseqüentemente, a *contração* do músculo liso – *é a sensibilização ao Ca²⁺*. **(Figura 1)**

A via de sensibilização ao Ca²⁺ leva à contração máxima *sem levar em conta* a concentração intracelular de Ca²⁺, pela regulação do estado de fosforilação da MLC pela MLCP.⁶

A *Rho-quinase* atua fosforilando a subunidade M regulatória da MLCP, a MYPT1, suprimindo a sua atividade, gerando conseqüente contração do músculo liso.

Além do IP₃, a liberação de Ca²⁺ 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 NH₂ e em uma única região que atravessa a membrana e um longo domínio catalítico extracelular no terminal COOH.¹⁵ É uma proteína bifuncional e possui atividades de ADP-ribosil ciclase e cADPR hidrolase.^{16,17} 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.^{18,19} 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.²⁰

Além disso, esta via reguladora do cálcio contribui para alterações na homeostase do cálcio brônquico induzidas por citocinas inflamatórias e Th₂, sugerindo um papel na patogênese da hiper-responsividade brônquica.

01. Stephens NL, Li W, Wang Y, Ma X. The contractile apparatus of airway smooth muscle. *Biophysics and biochemistry. Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:S80-94.
02. 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.
03. 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.
04. 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.
05. 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.
06. Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993; 361:315-25.
07. Patel S, Joseph SK, Thomas AP. Molecular properties of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Cell Calcium* 1999; 25:247-64.
08. Sanderson MJ, Delmotte P, Bai Y, Perez-Zogbi JF. Regulation of airway smooth muscle cell contractility by Ca²⁺ signaling and sensitivity. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:23-31.
09. Jude JA, Wylam ME, Walseth TF, Kannan MS. Calcium signaling in airway smooth muscle. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:15-22.
10. Bossé Y, Sobieszek A, Paré PD, Seow CY. Length adaptation of airway smooth muscle. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5:62-7.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
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 Ca²⁺-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 Ca²⁺-induced Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ signaling contributes to airway smooth muscle hyper-responsiveness. *FASEB J* 2003; 17:452-4.

[Anterior << Adesão de Moléculasa](#)

Design by Walter Serralheiro

[Próximo >>Broncoconstrução como Estímulo Pró-inflamatório](#)