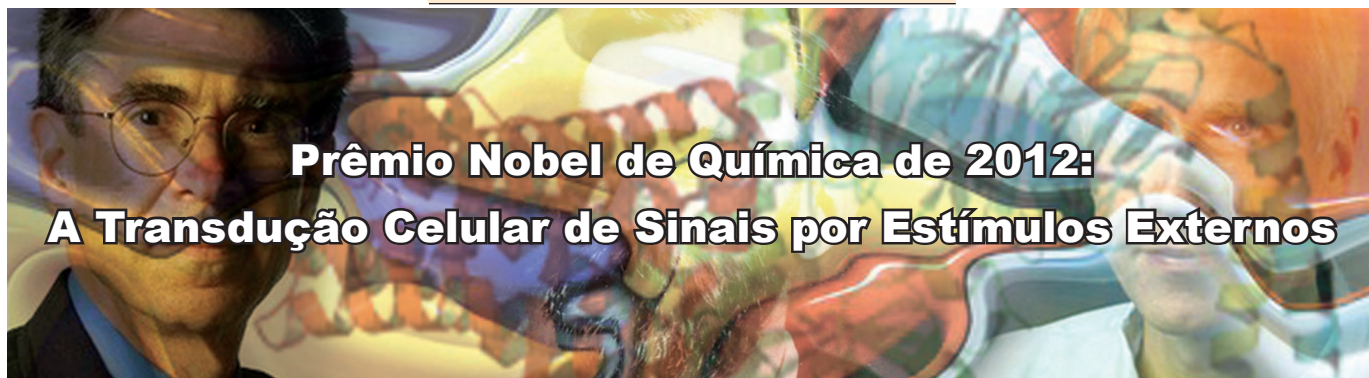




Rafael V. C. Guido, Glaucius Oliva e Adriano D. Andricopulo

O Prêmio Nobel de Química foi concedido para 162 cientistas entre 1901 e 2012. Jacobus Henricus van't Hoff foi o primeiro laureado, em 1901, e Frederick Sanger o único premiado duas vezes, em 1958 e 1980. O de 2012 foi atribuído aos pesquisadores americanos Robert J. Lefkowitz e Brian K. Kobilka por seus estudos sobre os receptores acoplados à proteína G (GPCRs, sigla em inglês para *G-protein-coupled receptors*). Estas fazem parte de uma superfamília de proteínas que estão acopladas a receptores celulares e, quando ativadas, interferem na transdução de sinais, resultando em processos de ativação de importantes eventos intracelulares por estímulos externos. Este artigo explica o que são os GPCRs, como eles atuam nas células e também a contribuição dos dois laureados para o avanço do conhecimento sobre esses receptores.

► Prêmio Nobel de Química 2012, GPCRs, Receptores, Proteína G ◀

Recebido em 29/10/2012, aceito em 29/10/2012

278

Receptores acoplados à proteína G

Receptores acoplados à proteína G (GPCRs, sigla em inglês para *G-protein-coupled receptors*) pertencem ao maior e mais diversificado grupo de receptores de membrana em eucariotos (Figura 1). Esses receptores, localizados na superfície celular, atuam como mediadores na transmissão de sinais externos (e.g., energia luminosa, peptídeos, lipídeos, açúcares e proteínas) para o interior das células. Devido à sua grande variedade, as informações transmitidas pelos GPCRs têm diversidade bastante significativa, incluindo desde a detecção de luz, odores, sons, presença ou ausência de moléculas específicas, até a troca de informações entre células.

Os GPCRs desempenham funções centrais nos processos bioquímicos e celulares nos quais estão envolvidos. Entre estes, destaca-se a sua relevância como alvos terapêuticos para a atuação de vários fármacos. Exemplos incluem os receptores muscarínicos (e.g., receptor de acetilcolina), adrenérgicos (e.g., α_1 , α_2 , β_1 , β_2), dopaminérgicos (e.g., D_1 , D_2 , D_3), serotoninérgicos (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃), opiéides (e.g., δ , κ , μ), peptídicos (e.g., receptor de glucagon, receptor

de insulina), purinérgicos (e.g., A_1 , A_2) e quimiorreceptores do olfato (e.g., OR1A1). Estima-se que 40% de todos os princípios ativos de medicamentos prescritos no mundo se ligam a algum dos subtipos de GPCRs (Filmore, 2004). Além disso, grande parte dos fármacos de grande sucesso no mercado farmacêutico possui como alvo molecular um GPCR. Destes, destacam-se o antipsicótico olanzapina (Zyprexa®, da Eli Lilly), o antialérgico desloratadina (Desalex®, da Schering-Plough), o antiulceroso ranitidina (Zantac®, da GlaxoSmithKline) e o indutor de motilidade intestinal tegaserode (Zelmac®, da Novartis) (Figura 2).

Os GPCRs são foco de intensos esforços em pesquisa científica. Inúmeros avanços importantes foram registrados desde a sua descoberta na década de 1980, com destaque para a elucidação da estrutura 3D de diversos subtipos de GPCRs por métodos experimentais (e.g., cristalografia de raios X) e computacionais (e.g., modelagem molecular) (Figura 3).

O conhecimento de informações moleculares detalhadas contribuiu de forma substancial para a melhor compreensão dos mecanismos bioquímicos dessa classe de receptores. Além disso, proporcionaram o estabelecimento de bases sólidas que permitiram a descoberta de novos fármacos com alta afinidade e seletividade. Consequentemente, 25% dos novos medicamentos que chegaram ao mercado farmacêutico entre 2000 e 2009 apresentam GPCRs como alvos moleculares (Congreve et al., 2011).

A seção "Atualidades em Química" procura apresentar assuntos que mostrem como a Química é uma ciência viva, seja com relação a novas descobertas, seja no que diz respeito à sempre necessária revisão de conceitos.

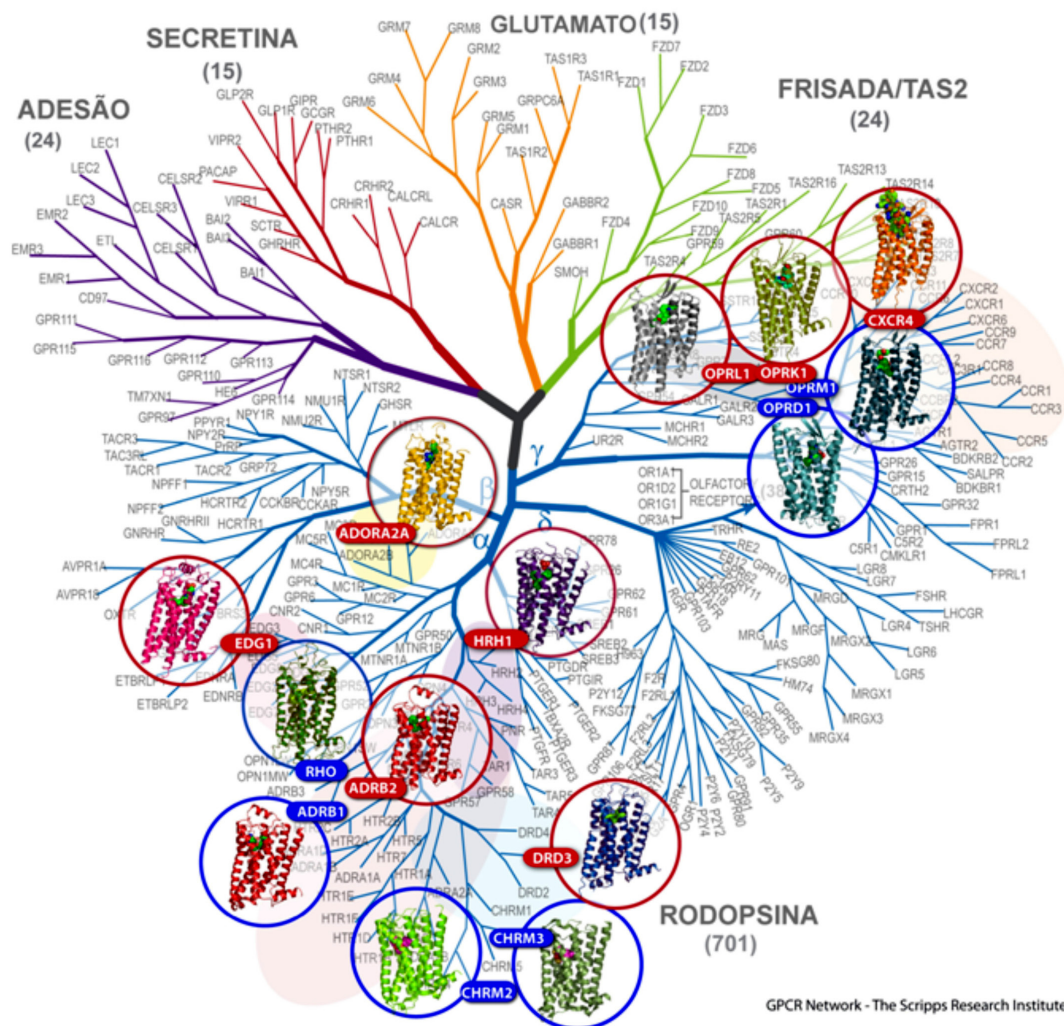


Figura 1: Membros da superfamília dos GPCRs. Os círculos indicam os membros da família cujas estruturas tridimensionais (3D) foram elucidadas por métodos experimentais [<http://gpcr.scripps.edu/outreach.htm>].

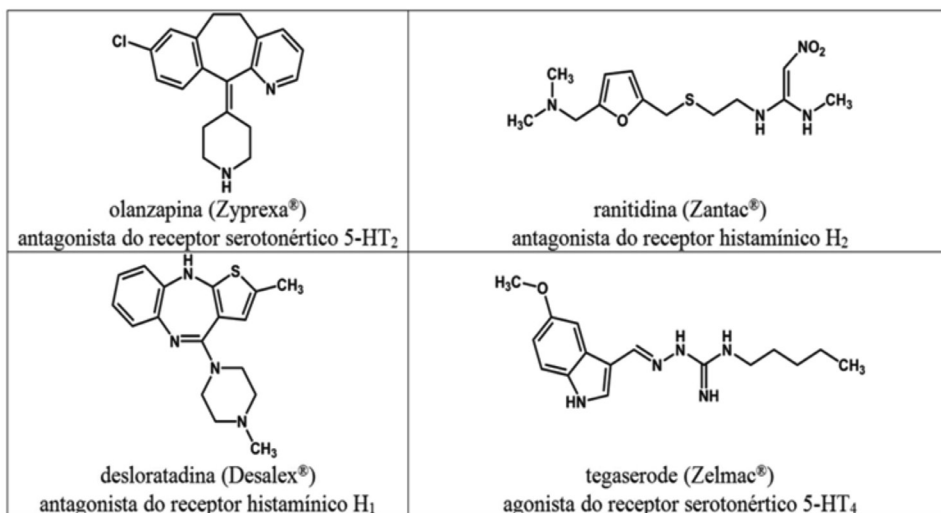


Figura 2: Exemplos de fármacos que se ligam a GPCRs.

Estrutura molecular

Os GPCRs compartilham um enovelamento comum conservado ao longo do processo evolutivo. A topologia

geral dos GPCRs é constituída por um domínio N-terminal extracelular, sete domínios transmembrana (do inglês *trans-membrane domain*, TMD) e um domínio C-terminal intracelular (Figura 4). No genoma humano, existem 390 genes

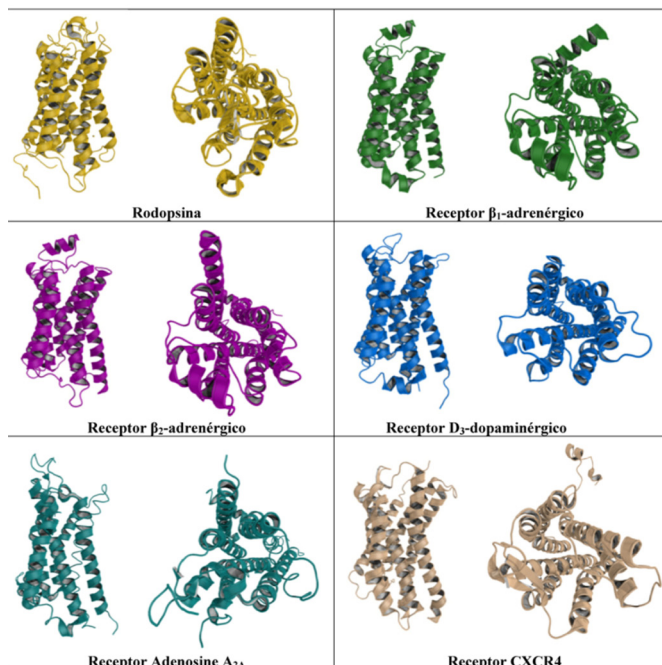


Figura 3: Representação ortogonal de estruturas 3D representativas de GPCRs determinadas por cristalografia de raios X.

que codificam para GPCRs (Lagerstrom e Schioth, 2008), os quais são classificados em três grandes famílias: rodopsinas (família A ou classe I), secretina e adesão (família B ou classe II) e glutamato (família C ou classe III) (Figura 1).

Os GPCRs interagem com proteínas específicas localizadas na face interna da membrana celular. Estas, conhecidas como proteínas G, são heterotrimeros (e.g., subunidades α , β e γ) que pertencem à família das GTPases e se ligam reversivelmente a derivados guanidínicos como a guanosina trifosfato (GTP) e a guanosina difosfato (GDP) (Figuras 5 e 6). Os nucleotídeos guanidínicos se ligam à subunidade α , que apresenta atividade enzimática capaz de catalisar a conversão do GTP em GDP. As subunidades β e γ apresentam características hidrofóbicas, portanto, encontram-se inseridas na face interna da membrana plasmática.

Na ausência de um sinal externo, uma molécula de GDP se liga à subunidade α da proteína G, formando um complexo estável que interage com o GPCR (Figura 7). Esse complexo multimolecular permanece inalterado até que uma molécula sinalizadora externa se ligue ao sítio de interação do GPCR. Essa interação determina uma mudança conformacional na estrutura do receptor que ativa a proteína G. Nesse momento, uma molécula de GTP substitui a de GDP previamente ligada à subunidade α , e as subunidades de proteína G se dissociam em dois complexos: um deles, monomérico, constituído pela subunidade α ligada ao GTP, e o outro, um complexo dimérico, constituído pelas subunidades β e γ (Figura 5). Os dois complexos permanecem ancorados à membrana plasmática, contudo dissociados do GPCR, de modo que são capazes de se difundirem pela membrana para interagir com outras proteínas. A proteína G permanece na forma ativa enquanto a

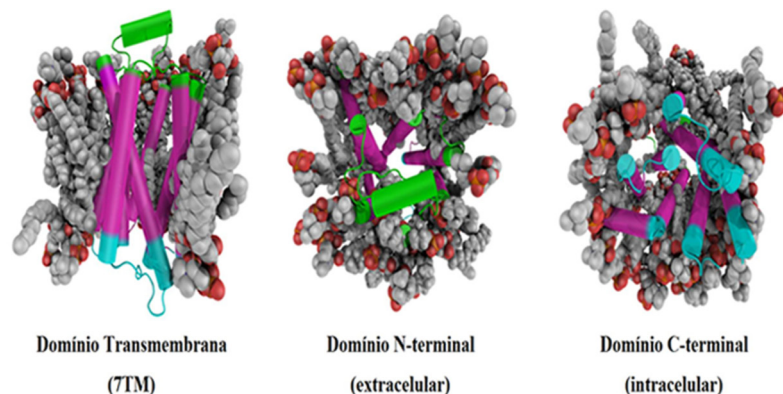


Figura 4: Topologia geral dos GPCRs. Estrutura representada como modelo de fitas (domínio transmembrana = magenta; domínio N-terminal = verde; e domínio C-terminal = ciano). Os fosfolipídios da membrana celular estão representados como modelos de esferas.

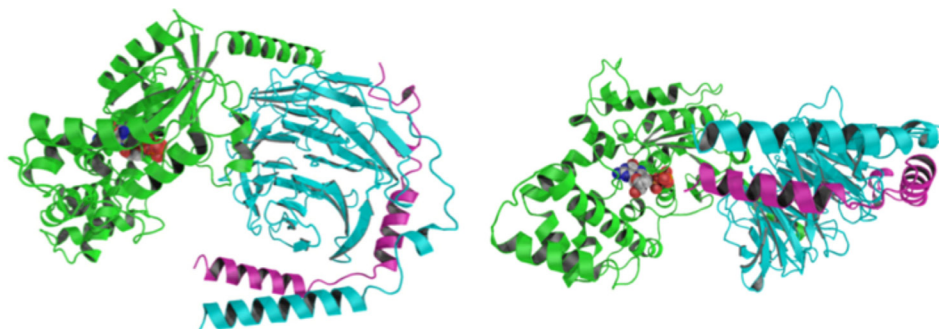


Figura 5: Visão ortogonal do modelo de fitas representativo das subunidades α (verde), β (ciano) e γ (magenta) da proteína G em complexo com uma molécula de GDP (modelo de esferas).

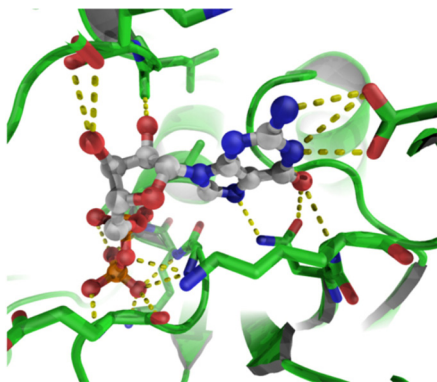


Figura 6: Modo de ligação do GDP (modelo esfera e bastões) na subunidade α da proteína G (modelo de fitas e bastões). As ligações de hidrogênio estão representadas como linhas tracejadas em amarelo.

molécula de GTP estiver ligada à subunidade α . No entanto, devido à atividade GTPase (refere-se às enzimas hidrolases que se ligam e hidrolisam o GTP) das proteínas G, o GTP é hidrolisado, gerando GDP, o que determina uma nova mudança conformacional. Dessa maneira, o complexo trimérico α , β e γ da proteína G é restabelecido, favorecendo a sua interação com o GPCR. Portanto, as proteínas G funcionam como uma chave interruptora que pode ser ligada (forma ativa) ou desligada (forma inativa) por um sinal externo, quando da interação com o GPCR na face externa da membrana.

Quando a proteína G está ativa, tanto o complexo da subunidade α -GTP quanto o complexo β - γ podem interagir com outras proteínas de membrana envolvidas na transdução de sinal. Alvos específicos de interação das proteínas G incluem enzimas que sintetizam segundos mensageiros

Os laureados

(Foto da Universidade Duke)



Robert J. Lefkowitz nasceu em Nova Iorque (EUA), em 15 de abril de 1943. Graduado em Medicina pela Universidade de Columbia, completou sua residência médica pelo Hospital Geral de Massachusetts, em Boston (EUA). Em 1973, tornou-se professor associado de medicina e professor assistente de bioquímica do Centro Médico da Universidade Duke (Carolina do

Norte, EUA), onde é atualmente professor titular de medicina, patologia e bioquímica. Também é pesquisador do Instituto Médico Howard Hughes (Maryland, EUA) desde 1976. O foco de seu trabalho de pesquisa é a elucidação das propriedades moleculares e dos mecanismos reguladores que controlam a função dos GPCRs. O objetivo principal é entender os princípios gerais de transdução de sinal, a partir do exterior para o interior da célula, que estão envolvidos em sistemas diversos como a percepção sensorial, a neurotransmissora e a sinalização hormonal. Com o passar dos anos, os estudos de Lefkowitz sobre receptores celulares e de transdução de sinal ganharam grande reconhecimento mundial. Em particular, por suas caracterizações detalhadas da sequência, estrutura e função dos receptores β -adrenérgicos e afins e pela descoberta e caracterização das duas famílias de proteínas que os regulam: a dos receptores quinases acoplados à proteína G e a β -arrestinas. Lefkowitz fez uma contribuição notável em meados de 1980 quando ele e os seus colegas clonaram o primeiro gene para o receptor β -adrenérgico, chegando a um total de oito receptores adrenérgicos (receptores de adrenalina e noradrenalina). Isso levou à descoberta de que todos os receptores acoplados à proteína G possuíam uma estrutura molecular muito semelhante. Hoje, sabe-se que essa família possui cerca de mil receptores no corpo humano e a grande importância é que todos podem utilizar os mesmos mecanismos básicos, sendo que 30-50% de todos os medicamentos interagem com os GPCRs. Segundo dados da Thomson-ISI, Lefkowitz está entre os pesquisadores mais citados nas áreas de biologia, bioquímica, farmacologia e medicina, possuindo

um índice H = 180 e mais de 100.000 citações [http://www.lefkolab.org/Lefkowitz_Bio.html].

(Foto da Universidade Stanford)



Brian K. Kobilka nasceu em Little Falls (Minnesota, EUA) em maio de 1955. Graduado em biologia e química pela Universidade de Minnesota e medicina pela Universidade de Yale, completou sua residência médica no Hospital Barnes, em St. Louis (Missouri, EUA). Logo após, tornou-se pesquisador do laboratório de Lefkowitz, quando foi professor assistente do Departamento de Medicina da Universidade Duke. É atualmente professor titular do Departamento de Medicina e Fisiologia Molecular e Celular da Escola de Medicina da Universidade Stanford (Califórnia, EUA). Seus interesses de pesquisa incluem a caracterização da estrutura e o mecanismo de ativação dos GPCRs, bem como o estudo do papel dos subtipos de receptores adrenérgicos na regulação da fisiologia cardiovascular, empregando uma variedade de abordagens da biologia celular, biologia estrutural, farmacologia e fisiologia. Em 2007, obteve as duas primeiras estruturas cristalográficas de um GPCR ativado, em particular, do receptor adrenérgico β -2. Esses estudos deram origem à cristalização de outros GPCRs, em estados inativos e ativos, que proporcionaram avanços significativos no conhecimento sobre as bases estruturais para a especificidade de ligação dos GPCRs. Estudos da dinâmica de proteínas associados à versatilidade funcional dos GPCRs têm sido um grande foco atual de suas pesquisas. Em 2011, Kobilka conseguiu outro avanço quando a sua equipe de pesquisa capturou uma imagem do receptor β -adrenérgico no exato momento em que era ativado por um hormônio e enviava um sinal para a célula. "Esta imagem é uma obra-prima molecular – o resultado de décadas de pesquisa", disse Kobilka em comunicado no site do Prêmio Nobel. Segundo dados da Thomson-ISI, Kobilka possui índice H = 73, tendo recebido mais de 21.000 citações.

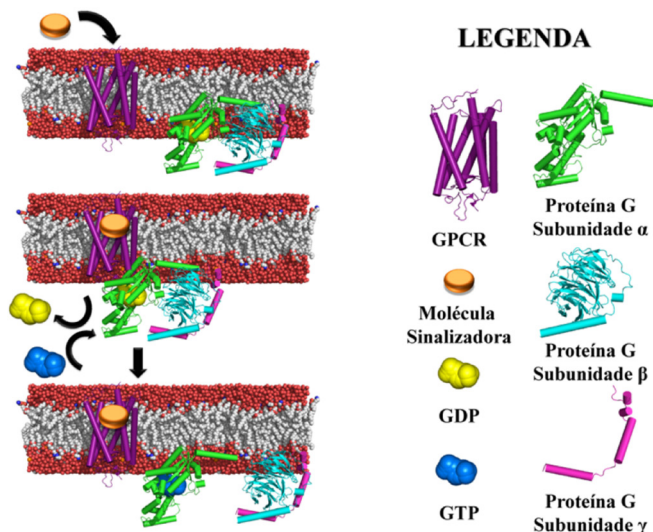


Figura 7: Mecanismo molecular de ativação e desativação do complexo GPCR-proteína G. O complexo ocorre por meio da subunidade α que contém uma molécula de GDP ou GTP ligada.

(e.g., AMP cíclico, diacilglicerol e inositol 1,4,5 trifosfato) e canais iônicos (e.g., canais de Ca^{2+} , Na/K^+ , Cl^-).

Considerações finais

Os GPCRs pertencem a uma superfamília de receptores de superfície responsáveis pela transdução de sinais do meio extracelular para o intracelular. A interação entre uma

molécula sinalizadora e o GPCR induz uma mudança conformacional na estrutura 3D do receptor que ativa a proteína G no meio intracelular, determinando a síntese de diversos segundos mensageiros. Dessa forma, os GPCRs auxiliam a regulação de diversas funções fisiológicas, que variam desde a detecção de sensações físicas (e.g., odores, luminosidade) até a regulação hormonal. Por sua contribuição para o avanço do conhecimento sobre os GPCRs, os pesquisadores americanos Robert J. Lefkowitz e Brian K. Kobilka foram laureados com o Prêmio Nobel de Química de 2012, compartilhando uma premiação de 8 milhões de coroas suecas (SEK), o equivalente a US\$ 1,2 milhão.

Rafael V. C. Guido (rvcguido@ifsc.usp.br), graduado em Farmácia Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), doutor em Física Aplicada pelo Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC-USP), com estágio sanduiche na *Philipps Universität* na Alemanha, e atualmente professor doutor do IFSC-USP. São Carlos, SP – BR. **Glaucius Oliva** (oliva@ifsc.usp.br), graduado em Engenharia Elétrica e Eletrônica pela USP, mestre em Física pela USP, doutor pela Universidade de Londres, professor titular do IFSC-USP, comendador da Ordem Nacional do Mérito Científico e membro titular da Academia Brasileira de Ciências (ABC), e presidente do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). São Carlos, SP – BR. **Adriano D. Andricopulo** (aandrico@ifsc.usp.br), graduado em Química Industrial pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), mestre em Química Orgânica pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), doutor em Química Orgânica pela UFSC com estágio de doutorado pela Universidade de Michigan (EUA), pós-doutorado em Química Medicinal pela Universidade de Michigan, e professor associado 3 do IFSC-USP e membro afiliado da Academia Brasileira de Ciências (ABC) e presidente sucessor da Sociedade Brasileira de Química (SBQ). São Carlos, SP – BR.

Referências

- CONGREVE, M.; LANGMEAD, C. J.; MASON, J. S.; MARSHALL, F. H. Progress in structure based drug design for G protein-coupled receptors. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 54, p. 4283–4311, 2011.
- FILMORE, D. It's a GPCR world. *Modern Drug Discovery*, v. 7, p. 24–28, 2004.
- GPCR NETWORK. Understanding human GPCR biology. Disponível em: <http://gpcr.scripps.edu/outreach.htm>. Acessado em: 28/10/2012.
- LAGERSTRÖM, M. C.; SCHIÖTH, H. B. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 7, p. 339–357, 2008.
- LEFKOWITZ LAB. Disponível em: http://www.lefkolab.org/Lefkowitz_Bio.html. Acessado em: 28/10/2012.

Para saber mais

- BRIAN K. KOBILKA BIOGRAPHICAL. Disponível em: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/kobilka.html. Acessado em: 28/10/2012.
- KOBILKA LAB. Disponível em: <http://med.stanford.edu/kobilkalab/index.html>. Acessado em: 28/10/2012.
- LEFKOWITZ LAB. Disponível em: http://www.lefkolab.org/Home_Page.html. Acessado em: 28/10/2012.
- ROBERT J. LEFKOWITZ BIOGRAPHICAL. Disponível em: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/lefkowitz.html. Acessado em: 28/10/2012.
- STUDIES OF G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS. Disponível em: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/advanced-chemistryprize2012.pdf. Acessado em: 28/10/2012.

Abstract: *The Nobel Prize in Chemistry 2012: Cellular Signal Transduction by External Stimuli.* The Nobel Prize in Chemistry has been awarded to 162 scientists between 1901 and 2012. Jacobus Henricus van't Hoff was the first Nobel Laureate in 1901, and Frederick Sanger the only individual awarded twice, in 1958 and 1980. The 2012 Nobel Prize was awarded jointly to the American researchers Robert J. Lefkowitz and Brian K. Kobilka for their outstanding studies of the G-protein-coupled receptors (GPCRs). G proteins are part of a superfamily of proteins that are coupled to cellular receptors and when activated interfere in signal transduction, resulting in activation processes of major intracellular events by external stimuli. This article highlights the role of GPCRs in cellular systems, also explaining the contribution of the two Nobel laureates for advancing the knowledge on this subject.

Keywords: Nobel Prize in Chemistry 2012, GPCRs, Receptors, G Protein