

Fatores e Mecanismos Envolvidos na Hipertrofia Ventricular Esquerda e o Papel Anti-Hipertrófico do Óxido Nítrico

Factors and Mechanisms Involved in Left Ventricular Hypertrophy and the Anti-Hypertrophic Role of Nitric Oxide

José Antonio Dias Garcia¹ e Erika Kristina Incerpi²

Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS)¹, Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)², Alfenas, Três Corações, MG - Brasil

Resumo

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) ocorre em resposta à sobrecarga hemodinâmica relatada em várias condições fisiológicas e patológicas. Entretanto, ainda não está completamente elucidado se o estímulo primário para a hipertrofia é o estiramento mecânico do coração, fatores neuro-humorais, ou mesmo a interação de ambos. Esses fatores são traduzidos no interior da célula como alterações bioquímicas que levam à ativação de segundos (citossólicos) e terceiros (nucleares) mensageiros que irão agir no núcleo da célula, regulando a transcrição, e finalmente determinarão a expressão gênica que induza HVE. A HVE é caracterizada por alterações estruturais decorrentes do aumento das dimensões dos cardiomiócitos, da proliferação do tecido conjuntivo intersticial e da rarefação da microcirculação coronariana. Nos últimos anos, o óxido nítrico (\bullet NO) surgiu como um importante regulador do remodelamento cardíaco, especificamente reconhecido como um mediador anti-hipertrófico. Vários estudos têm demonstrado os alvos celulares, as vias de sinalização anti-hipertrófica e o papel funcional do \bullet NO. Portanto, a HVE parece desenvolver-se em decorrência da perda do balanço entre as vias de sinalização pró e anti-hipertróficas. Esses novos conhecimentos sobre as vias de sinalização pró e anti-hipertróficas permitirão desenvolver novas estratégias no tratamento das HVE patológicas.

Introdução

Segundo a Organização Mundial de Saúde (2005), as doenças cardiovasculares lideram as causas de morte no mundo. Dentre essas doenças, a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) constitui um indicador de grande relevância no risco de morbidade e mortalidade cardiovascular. Segundo o *Framingham Heart Study*¹, os indivíduos que apresentaram HVE, diagnosticada por alterações eletrocardiográficas, apresentaram risco de morte seis vezes maior que a população em geral.

O miocárdio dos mamíferos passa por um crescimento hipertrófico durante a maturação pós-nascimento, que

é caracterizado por aumento no tamanho individual dos cardiomiócitos sem divisão celular². Esse padrão de desenvolvimento hipertrófico pode ser reiniciado no coração adulto em resposta a alterações hemodinâmicas e/ou neuro-hormonais³.

O óxido nítrico (\bullet NO) produzido no coração é apontado como inibidor endógeno da cascata de sinalização que induz a hipertrofia cardíaca mal-adaptada. As primeiras evidências de que o \bullet NO pode apresentar efeitos anti-hipertróficos no coração foram obtidas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), sob tratamento crônico com L-arginina⁴. Posteriormente, tal papel do \bullet NO foi confirmado em camundongos que hiperexpressam óxido nítrico sintase endotelial (NOSe), nos quais o \bullet NO atenuou a hipertrofia cardíaca induzida pela infusão crônica de isoprenalina (ISO)⁵, indicando que o \bullet NO endógeno atua como modulador negativo para a hipertrofia cardíaca.

O objetivo desta revisão é descrever os fatores hipertróficos e/ou proliferativos indutores da HVE, assim como os alvos celulares, as vias de sinalização e o papel funcional do \bullet NO como molécula anti-hipertrófica.

Conceito e classificação da hipertrofia ventricular esquerda

A HVE constitui um conjunto de alterações estruturais decorrentes do aumento das dimensões dos cardiomiócitos, da proliferação do tecido conjuntivo intersticial e da rarefação da microcirculação coronariana⁶.

Quando o cardiomiócito recebe um estímulo hipertrófico, esse é traduzido no interior da célula, como alterações bioquímicas que levam à ativação de segundos (citossólicos) e terceiros (nucleares) mensageiros que irão agir no núcleo da célula, regulando a transcrição, e finalmente determinarão a expressão gênica que induz a HVE (fig. 1).

O crescimento dos cardiomiócitos na hipertrofia ventricular esquerda pode ocorrer pela adição de sarcômeros em série (sobrecarga de volume) ou em paralelo (sobrecarga de pressão) (fig. 2), permitindo que a célula aumente em comprimento ou em diâmetro, levando à hipertrofia excêntrica ou concêntrica, respectivamente⁷ (fig. 2).

Segundo Kempf e Wollert⁷, a hipertrofia causada por sobrecargas hemodinâmicas pode conduzir à hipertrofia adaptada (fisiológica) ou mal-adaptada (patológica). Hipertrofia fisiológica é aquela desenvolvida em decorrência da sobrecarga hemodinâmica transitória, como as observadas no crescimento cardíaco durante a adolescência e a gestação, e em resposta a

Palavras-chave

Hipertrofia ventricular esquerda, óxido nítrico, cardiomiócitos.

Correspondência: José Antonio Dias Garcia •

Rua Antônio Esteves, 850, Jardim Aeroporto, 37.130-000, Alfenas, MG - Brasil
E-mail: jadgarcia@uol.com.br

Artigo recebido em 02/08/07; revisado recebido em 17/10/07; aceito em 30/10/07.

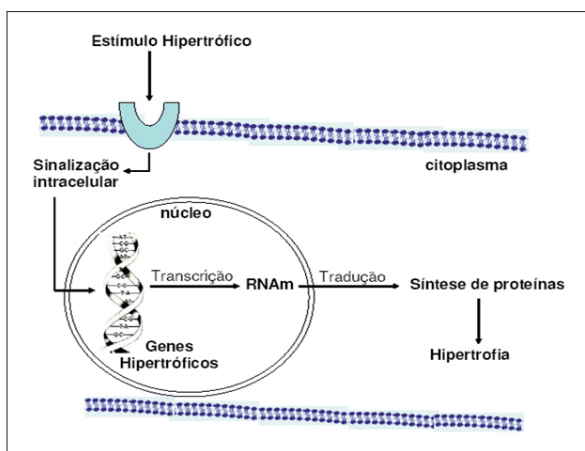


Fig. 1 - Tradução do estímulo hipertrofico no interior do cardiomiócito.

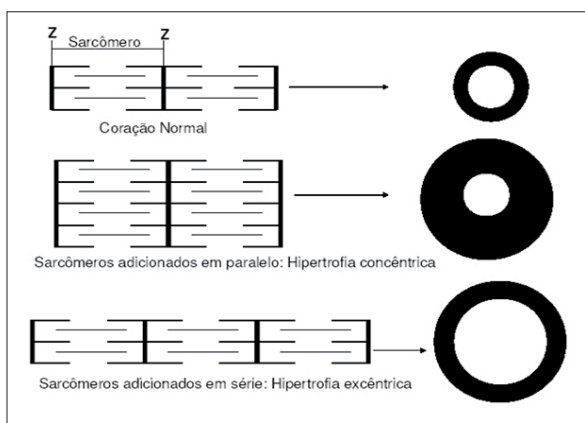


Fig. 2 - Diferenciação da hipertrofia excêntrica (sobrecarga de volume) e concêntrica (sobrecarga de pressão). Sarcômero: espaço compreendido entre dois discos Z.

exercícios regulares, enquanto a hipertrofia patológica é aquela decorrente de sobrecarga hemodinâmica persistente.

Fatores que induzem a hipertrofia ventricular esquerda

Fatores hemodinâmicos

Aumento da necessidade metabólica

A sobrecarga de trabalho é considerada o fator mais freqüentemente envolvido na HVE. O aumento na atividade cardíaca pode estar associado à maior demanda fisiológica, como no exercício físico⁸ e em estados de anemia crônica⁹. Assim, como conseqüência do aumento da necessidade de bombear mais sangue para a periferia, há uma adaptação adequada às novas exigências.

Sobrecarga de pressão e/ou volume

Condições patológicas, como hipertensão arterial, estenose ou coarctação da aorta, denominadas sobrecarga de pressão,

ou as de insuficiência aórtica ou comunicação interatrial, denominadas sobrecarga de volume, podem promover a hipertrofia por aumento do volume dos cardiomiócitos, acompanhado de aumento e alteração na qualidade dos componentes da matriz colágena^{5,7}.

O estiramento é capaz de ativar canais de Ca^{+2} tipo L (LTCC) (fig. 3), de Na^{+} e os trocadores de Na^{+}/H^{+} ; inativar canais de K^{+} ; ativar adenilato-ciclase e fosfolipase C¹⁰ (fig. 3), além de estar associado ao acúmulo de inositóis de fosfato, os quais atuam como segundos mensageiros¹¹. As alterações no funcionamento dos canais iônicos do sarcolema levam a variações da concentração iônica intracelular, o que pode representar um estímulo inicial para ativação de proteínas quinases ativadoras mitogênicas (MAPK). Dentre a superfamília das MAPK, a quinase regulada por sinal extracelular (ERK), a quinase c-jun NH₂-terminal (JUNK) e a quinase p38 são mediadores da sinalização hipertrofica das células miocárdicas, pois induzem a transcrição de genes associados à hipertrofia¹² (fig. 3). O estímulo mecânico também pode ativar os receptores integrinas, localizados na membrana celular entre a matriz extracelular (ECM) e o complexo de proteínas que formam a linha Z do sarcômero¹². Nessa malha, posicionam-se proteínas sinalizadoras, como as tirosina-quinases coativadoras de receptores esteroidais (Src) e quinase de adesão focal (Fak), além de outras responsáveis pelo início do processo de sinalização ativado pelas integrinas¹³ (fig. 3).

O estímulo mecânico também induz a liberação local de fatores autócrinos e parácrinos pelas células miocárdicas, como endotelina 1 (ET1), fatores de crescimento e citocinas (fator de crescimento de fibroblatos (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e cardiotrofina-1¹²). Esses fatores podem ligar-se aos receptores específicos de membrana e ativar cascatas intracelulares acopladas à calcineurina, fosfoquinase-C e à via

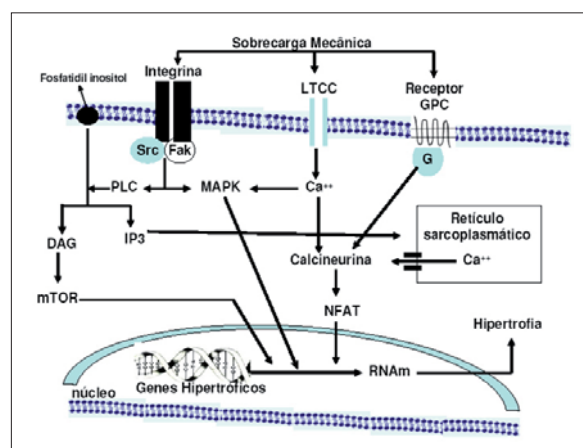


Fig. 3 - Vias de sinalização hipertrofica no cardiomiócito em resposta à sobrecarga mecânica. Canais de cálcio tipo L (LTCC), inositol trifosfato (IP3), diacilglicerol (DAG), fator nuclear ativador de célula T (NFAT), fosfolipase C (PLC), ácido ribonucleico mensageiro (RNAm), proteína quinase ativadora mitogênica (MAPK), tirosina quinases coativadoras de receptores esteroidais (Src) e quinase de adesão focal (Fak), receptor acoplado a proteína G (receptor GPC), mammalian target of rapamycin (mTOR).

da MAPK e dar início à cascata de eventos responsáveis pelo crescimento hipertrófico cardíaco (fig. 3 e 4).

Fatores neuro-humorais

Catecolaminas e sistema nervoso simpático

Os cardiomiócitos expressam receptores β -adrenérgicos (β -AR) e α_1 -adrenérgicos (α_1 -AR). A estimulação dos receptores β -adrenérgicos (β -AR) ativa a adenilato-ciclase pela interação com a proteína G estimulatória (Gs), a qual desencadeia cascatas intracelulares que ativam proteínas quinases A (PKA), estimulando também a p38-MPAK¹⁴. A estimulação crônica dos β -AR pela administração de isoproterenol¹⁵ induz o aumento da massa cardíaca, dos cardiomiócitos, da fibrose miocárdica e da disfunção progressiva, o que culmina com insuficiência cardíaca. Agudamente, a ativação dos α_1 -AR aumenta a contratilidade mediada pela ativação da proteína Gq. Esta provoca a ativação da fosfolipase C, que estimula hidrólise de fosfatidil inositóis da membrana, gerando dois segundos mensageiros, o diacilglicerol (DAG) e o inositol trifosfato (IP3). O IP3 estimula a liberação de Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático, enquanto o DAG ativa a proteína quinase C (PKC) e, esta, por sua vez, induz a hipertrofia em cultura de miócitos neonatais¹⁶ (fig. 4).

Angiotensina II

Estudos de Lindpaintner e Ganten¹⁷ relatam a síntese de angiotensina II (Ang II) tanto em miócitos como em fibroblastos e miofibroblastos. Seus efeitos biológicos são mediados, basicamente, pelos receptores de membrana AT1 e AT2.

A Ang II interage com o receptor AT1, associado à proteína G, que estimula a fosfolipase C. Esta, por sua vez, induz a formação de trifosfato de inositol, assim como de diacilglicerol,

o que provoca aumento da concentração citoplasmática de Ca^{+2} , levando à ativação da proteína quinase C (PKC) e da adenilato-ciclase¹⁸. A Ang II, via receptor AT1, também é capaz de induzir uma cascata de ativação via tirosinas-quinases¹⁹. Essas tirosinas-quinases regulam vias efetoras intracelulares, incluindo a MAPK, que ativam vários fatores de transcrição de proteínas nos cardiomiócitos (fig. 4).

Os receptores AT2 apresentam estrutura transmembrana clássica de um receptor associado à proteína G²⁰. Estudos de Senbonmatsu e cols.²¹ demonstraram que camundongos com deleção do receptor AT2 apresentaram atenuação da hipertrofia induzida por sobrecarga pressórica. Entretanto, animais com deleção de receptores AT1 não apresentaram atenuação da hipertrofia induzida por sobrecarga pressórica²², sugerindo que a deficiência de receptores AT1 pode ser compensada pelos receptores AT2, ou, ainda, que este subtipo AT2 pode ter papel predominante nos efeitos tróficos da Ang II em cardiomiócitos.

Insulina

A insulina liga-se à subunidade α do receptor pertencente à família dos receptores de membrana que possuem capacidade tirosina-quinase²³, provoca uma mudança conformacional na subunidade β , que leva à sua autofosforilação em tirosina, e ativa sua capacidade tirosina-quinase. Uma vez ativado, o receptor de insulina (IR) é capaz de fosforilar diversos substratos intracelulares, entre eles os substratos do receptor de insulina (IRS-1-4), Shc (SRC Homology collagen) e Jak-2²⁴ (fig. 4). Essas proteínas fosforiladas recrutam e ativam diversos efetores intracelulares, com funções celulares diferentes²³. A via ERK/MAPK está envolvida no controle do crescimento (fig. 4) e da mitogênese, enquanto a ativação fosfatidil inositol (PI) 3-quinase pelo IRS-1 está envolvida preferencialmente nas ações metabólicas da insulina^{23,25} (via IRS/PI3K/AKT/mTOR) (fig. 4). Em situações normais, a insulina ativa a produção de *NO em células endoteliais por um mecanismo dependente da fosfatidil inositol (PI) 3-quinase, levando ao aumento da produção local de *NO²⁶ com consequente efeito vasodilatador e antiapoptótico²⁷.

A insulina induz a fosforilação em tirosina do IRS-1, enquanto agentes que provocam resistência a insulina, tais com TNF α , ácidos graxos livres, estresse celular e hiperinsulinemia, induzem a ativação de quinases de serina/treonina que fosforilam o IRS-1 em serina, inibindo sua função²⁸. Assim, a redução da ativação da via fosfatidil inositol (PI) 3-quinase/Akt e a ativação preservada da via ERK/MAPK, em situação de resistência a insulina e hiperinsulinemia, estão sendo consideradas como eventos fundamentais para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca²⁹ (fig. 4).

Indiretamente, a insulina também pode induzir a hipertrofia cardíaca via aumento na expressão de RNAm dos receptores AT2³⁰ e na ativação do sistema nervoso simpático³.

Estresse oxidativo

O desequilíbrio entre a produção e a remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) é denominado estresse oxidativo/nitrosativo, respectivamente. Várias situações fisiopatológicas e genéticas podem induzir o

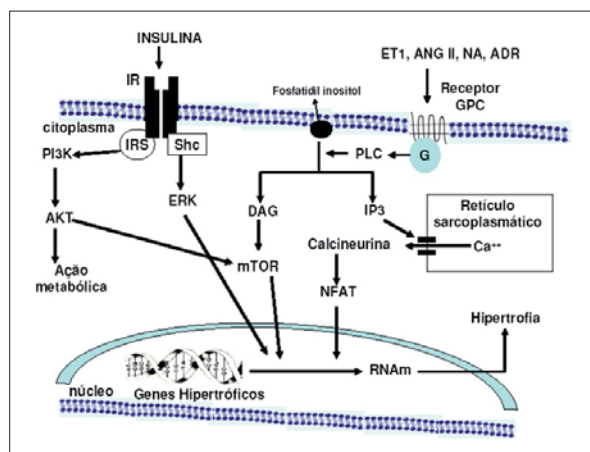


Fig. 4 - Vias de sinalização hipertrófica no cardiomiócito em respostas a estímulo neuro-hormonais. Inositol trifosfato (IP3), diacilglicerol (DAG), fator nuclear ativador de célula T (NFAT), fosfolipase C (PLC), ácido ribonucleico mensageiro (RNAm), quinase regulada por sinal extracelular (ERK), receptor acoplado a proteína G (Receptor GPC), mammalian target of rapamycin (mTOR), Fosfatidil inositol 3-quinase (PI3K), proteína quinase serina/treonina (AKT), SRC homology collagen (SHC), receptor de insulina (IR), substrato de receptor de insulina (IRS).

estresse oxidativo cardíaco, como aumento na concentração de Ang II³¹, hipercolesterolemia³², estresse mecânico no miocárdio³³ e processos inflamatórios³⁴.

A hipertensão e o estresse mecânico no miocárdio induzem o aumento das ROS nos cardiomiócitos, ativando a via MAPK³³, que desempenha papel importante na hipertrofia cardíaca. Além disso, o desequilíbrio redox reduz a biodisponibilidade do *NO no sistema cardiovascular³⁵ e altera o equilíbrio entre os fatores hipertroáficos (e/ou proliferativos) e os fatores anti-hipertroáficos (e/ou antiproliferativos) (fig. 5), desencadeando um remodelamento do miocárdio.

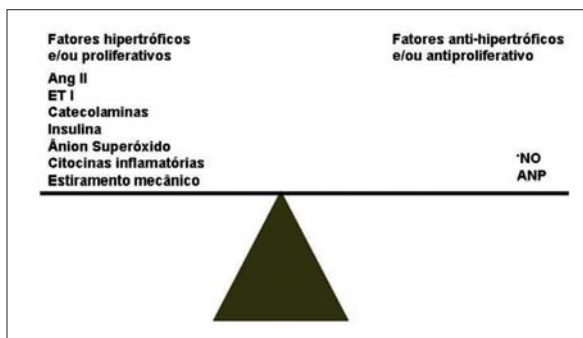


Fig. 5 - Equilíbrio entre os fatores hipertroáficos (e/ou proliferativos) e os fatores anti-hipertroáficos (e/ou antiproliferativos). Óxido nítrico (*NO); peptídeo natriurético atrial (ANP); angiotensina II (AngII); endotelina 1 (ET 1).

Hipercolesterolemia

A hipercolesterolemia, além de induzir o estresse oxidativo³², pode alterar a função e a expressão de canais de K_{ATP} em miocárdio³⁶, provocando a hipertrofia cardíaca, pelo simples fato de que a ativação desses canais atenua a hipertrofia cardíaca por meio da inibição da 70- KDa S6 Kinase³⁷, enzima que atua como gatilho para síntese proteica no remodelamento do miocárdio. Além disso, a hiperlipidemia está associada ao aumento na concentração plasmática de ET1, induzindo a alteração vasomotora³⁸. Em adição à propriedade vasoconstritora, a endotelina ativa vias de sinalização hipertrofica nos cardiomiócitos: PKC e MAPK³⁹.

Citocinas e fatores de crescimento induzidos pelo processo inflamatório

A trílogia composta por processo inflamatório⁴⁰, disfunção do endotélio⁴¹ e estresse oxidativo³¹, no ambiente cardiovascular, é considerada o denominador comum dentre as condições que promovem e sustentam a hipertrofia cardíaca.

O CD40L (ligante) é uma proteína transmembrana expressa na superfície de linfócitos, das células endoteliais, das células da musculatura lisa vascular e de macrófagos. Essa proteína exerce um efeito pró-oxidante, e sua interação com seu receptor CD40 induz a resposta inflamatória, favorecendo a síndrome coronariana aguda⁴². A interação entre CD40 e CD40L ativa a via $Nf\kappa\beta$ ⁴³ e promove a fosforilação do fator nuclear $Kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$) para o núcleo, onde ativa genes envolvidos na inflamação e no crescimento celular⁴⁴. A ativação do NF $\kappa\beta$ participa do desenvolvimento da

hipertrofia cardíaca em camundongos, caracterizada por aumento do depósito de colágeno⁴⁴.

A ativação dos linfócitos T resulta na produção de interferon- γ que, por sua vez, aumenta a síntese de citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-1. Essas citocinas induzem a produção de grandes quantidades de IL-6, a qual estimula a produção de proteínas inflamatórias⁴⁵, e à hipertrofia cardíaca em camundongos, pela sua interação com receptores de membrana gp-130⁴⁶. O TNF α induz a hipertrofia cardíaca *in vivo*, por determinar aumento na síntese de proteínas estruturais e contráteis dos cardiomiócitos, além de provocar o aumento na expressão de receptores AT1, elevando o efeito mediado por angiotensina II em favor da fibrose cardíaca⁴⁷.

Óxido nítrico/óxido nítrico sintase no coração

Síntese do óxido nítrico

O *NO é produzido por enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS). Essa é uma família de enzimas complexas que catalisam a oxidação da L-arginina para produzir óxido nítrico e L-citrulina. Três isoformas de NOS foram inicialmente caracterizadas: a isoforma neuronal (NOSn = NOS1), identificada no cérebro; a isoforma induzida (NOSi = NOS2) em macrófagos; e a isoforma endotelial (NOSe = NOS3) em células endoteliais⁴⁸ e cardiomiócitos⁴⁹. A NOSn e NOSe apresentam expressão constitutiva (óxido nítrico sintases constitutivas (NOSc)) e produzem baixa quantidade de *NO, quando ativadas por cálcio (Ca^{+2})⁵⁰. A NOSi é expressa somente em resposta a estímulos pró-inflamatórios e citocinas, e pode produzir grande quantidade de *NO⁵⁰.

No miocárdio sadio, a NOSe encontra-se expressa principalmente no endotélio vascular coronariano e no endotélio cardíaco⁵¹, assim como nos cardiomiócitos⁴⁹. Nessas células, a NOSe localiza-se nas cavéolas, ancorada pela caveolina 3 na membrana plasmática, próximo aos canais de Ca^{+2} tipo L7. A NOSn está presente nos gânglios nervosos intracardíacos, nas fibras nervosas atriais e em algumas fibras nervosas perivasculares dos ventrículos⁵². Sua expressão também foi detectada nos cardiomiócitos e nas células da musculatura lisa de pequenas e grandes artérias coronarianas de ratos⁵³. O coração adulto não expressa normalmente NOSi. Essa é ativada por mediadores do processo inflamatório em muitos tipos de células, incluindo células endoteliais e cardiomiócitos⁵⁴. Pode ser identificada no citosol⁷, mas já foi encontrada no espaço perinuclear, no aparelho de Golgi, na mitocôndria e na membrana plasmática⁵⁵.

Óxido nítrico: molécula anti-hipertrofica

As duas principais substâncias endógenas envolvidas no papel anti-hipertrofico do coração são o peptídeo natriurético atrial (ANP) e o *NO. O ANP secretado de grânulos atriais, em resposta ao estiramento atrial agudo ou crônico, exerce uma função anti-hipertensiva, anti-hipervolêmica e anti-hipertrofica através da ativação da guanilato-ciclase e conseqüente aumento nos níveis da guanosina monofosfato cíclica (GMPc)⁵⁶.

A produção de *NO nos cardiomiócitos é altamente compartimentalizada⁵⁷, como resultado da localização das

NOS. Em razão da alta reatividade natural do *NO, sua síntese na proximidade do seu alvo facilita sua acessibilidade aos processos intracelulares para uma sinalização coordenada. Independentemente da especificidade funcional das NOS em cardiomiócitos, o *NO exerce um efeito anti-hipertrofico *in vivo*, já que camundongos deficientes em NOSn ou NOSe desenvolveram hipertrofia cardíaca espontânea e, ainda, os deficientes em ambas as enzimas desenvolveram hipertrofia mais acentuada⁵⁸.

O alvo intracelular bem definido do *NO é a guanilato-ciclase solúvel (GCs), a qual possui um grupo heme que atua como receptor de *NO e converte cataliticamente a guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclica (cGMP). Uma série de estudos demonstrou que o *NO promove efeito anti-hipertrofico por meio da modulação negativa das vias pró-hipertroficas⁷, e a via dependente de GMPc desempenha um papel central nesse efeito.

O aumento de GMPc no meio intracelular inibe, via enzima proteína quinase-G (PKG), a rede de sinalização das diferentes vias pró-hipertroficas que envolvem as MAPK⁵⁹. Essa via *NO/GMPc/PKG desenvolve um importante papel na regulação negativa sobre a hipertrofia de cardiomiócitos induzida por Ang II, ET1, insulina e fatores de crescimento, inibindo a sinalização da MAPK/ERK e diminuindo a transcrição de genes associados à hipertrofia⁶⁰.

A via *NO/GMPc/PKG, além de inibir MAPK, também reduz a resposta hipertrofica induzida pela sobrecarga mecânica e por citocinas, o que inibe os seguintes processos: 1) a via calcineurina/fator nuclear ativador de células T (NFAT), pela diminuição do influxo de cálcio pelos canais de cálcio tipo L (LTCC)⁵⁹; 2) a expressão dos genes hipertroficos, como a ciclina D2⁶¹; e 3) a ativação do fator de transcrição NFkappa β ⁴⁴. Essa via (*NO/GMPc/PKG) também interage de maneira inibitória com as vias de estimulação β -adrenérgicas. A PKG induz efeito inotrópico negativo no coração por: 1) fosforilar a troponina I, diminuindo a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio; 2) inibir a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático, por fosforilar e inibir os receptores de IP3 presentes em suas membranas⁶². Existe evidência de que o *NO bloqueia a ação da fosfolipase C, inibindo a liberação de cálcio mediada pelo trifosfato de inositol (IP3)⁶³. Todos esses efeitos podem diminuir a concentração de mensageiros hipertroficos intracelulares ativados pela estimulação adrenérgica.

Quanto aos canais de K_{ATP} e à hipertrofia ventricular, a via *NO/GMPc ativa os canais de K_{ATP} do sarcolema⁶⁴, com provável inibição da 70-KDa S6 Kinase, atenuando a resposta hipertrofica em modelos hiperlipidêmicos³⁷.

Em adição a seus efeitos anti-hipertroficos, o *NO apresenta um efeito pró-apoptótico dose-dependente em cardiomiócitos. Assim, baixas concentrações de *NO inibem a hipertrofia do cardiomiócito, enquanto altas concentrações de *NO são requeridas para provocar a ativação de caspases, fragmentação de DNA e apoptose⁶⁵. A apoptose estimulada pelo *NO em cardiomiócitos adultos está associada à alteração na expressão dos genes pró-apoptóticos da família Bcl-2, o Bax e o Bak, os quais desempenham papel crítico na determinação do destino da célula, em parte por alteração da permeabilidade da membrana mitocondrial⁶⁶.

Há várias evidências de que o *NO é o efetor da apoptose mediada por citocinas e da ativação dos genes pró-apoptóticos, como: 1) a capacidade das citocinas de provocarem a produção do *NO em cardiomiócitos é proporcional à sua capacidade de ativar a morte celular programada (apoptose); 2) os antagonistas da NOSi previnem a produção de *NO e da apoptose e bloqueiam a expressão de Bcl-2 e o Bak⁶⁷.

O *NO gerado pela NOSi tem sido o responsável pela indução de apoptose em diferentes tipos de células⁶⁷, incluindo os cardiomiócitos⁶⁸. Após a indução, a NOSi permanece ativada por 20 horas⁶⁹, durante as quais sintetiza *NO em concentração 1.000 vezes maior que as NOSc⁷⁰ e, em condições de substrato ou co-fatores deficientes, reduz oxigênio molecular a superóxido⁷. O superóxido e o peroxinitrito, formado pela interação de *NO com superóxido, são altamente tóxicos para os cardiomiócitos⁷. Ing e cols.⁶⁸ e Arstall e cols.⁷¹ determinaram que apoptose de cardiomiócitos induzida pela NOSi parece ser independente de GCs e do GMPc, mas parece ser predominantemente pela formação de peroxinitrito. A citotoxicidade mediada pela NOSi não foi somente confinada em miócitos neonatal, mas também em miócitos adulto, onde o *NO endógeno gerado pela NOSi, após a exposição à combinação das citocinas INF γ e IL-1 β , provoca apoptose⁷¹.

Moduladores da biodisponibilidade do óxido nítrico

Doadores de óxido nítrico

Entre os compostos que apresentam grande potencial como doadores de *NO, encontram-se os S-nitrosotióis (RSNOs) de baixo peso molecular. Os RSNOs são espécies endógenas que foram detectados em fluidos do revestimento das vias aéreas, nas plaquetas e em neutrófilos, onde atuam nos sistemas biológicos como carregadores de *NO, na forma de tíois livres ou em proteínas contendo cisteína⁷².

Os RSNOs exógenos são fármacos promissores a serem utilizados no tratamento de doenças que envolvem disfunções na biodisponibilidade de *NO, uma vez que oferecem vantagens sobre as outras drogas existentes porque não induzem a tolerância nas células vasculares⁷³ como fazem o nitrato orgânico e o nitroprussiato de sódio.

Estudos clínicos mostraram que os RSNOs podem ser benéficos em uma série de desordens cardiovasculares⁷⁴. Podem também ter acesso ao compartimento intracelular pela ação catalítica da disulfeto isomerase de membrana, associada com uma reação de nitrosilação⁷⁴. Os membros dessa classe de composto incluem: S-nitroso-glutationa (GSN), S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP), S-nitroso-albumina e o S-nitroso-N-acetilcisteína (SNAC).

Inibidores da enzima conversora de angiotensina

A enzima conversora de angiotensina (ECA), além de gerar ANG II, também degrada bradicinina⁷⁵. A bradicinina é um vasodilatador dependente do endotélio, estimulando o endotélio a produzir *NO. Assim, os inibidores da ECA potencializam a bradicinina e têm sido utilizados pelo seu efeito farmacológico benéfico em aumentar a biodisponibilidade do *NO no tecido cardiovascular⁷⁶. Além

disso, a ANG II pode estimular a produção de superóxido, o que reduziria a biodisponibilidade do *NO⁷⁷, um evento que pode ser bloqueado pelos inibidores da ECA.

Inibidores da fosfodiesterase

Inibidores da fosfodiesterase como o sildenafil prolongam a ação sinalizadora do *NO por inibir a hidrólise da GMPc. A inibição da fosfodiesterase pelos inibidores da fosfodiesterase previne a degradação da GMPc em GMP5', o que prolonga o tempo de ação da GMPc, mantendo baixa a concentração intracelular de Ca⁺⁺ na muscular lisa dos vasos e conseqüente vasodilatação⁷⁸.

Conclusão

O aumento no estiramento dos cardiomiócitos é o principal fator indutor de crescimento hipertrófico, mas substâncias circulantes – como endotelina 1 (ET I), angiotensina II, insulina e catecolaminas –, fatores de crescimento, citocinas liberadas localmente pelas células miocárdicas e produtos do estresse oxidativo, como o ânion superóxido (O₂⁻), também provocam o crescimento hipertrófico dos cardiomiócitos. Esses, por sua vez, ativam segundos mensageiros como a fosfolipase C (PLC), as proteínas quinases ativadoras mitogênicas (MAPK) e a calcineurina. Essas proteínas ativadas promovem alterações nos fatores nucleares e na regulação de genes hipertróficos. Assim sendo, parece que não há uma cascata de sinalização isolada para cada estímulo ou resposta, mas que múltiplas

moléculas sinalizadoras ocorrem e podem formar uma rede de cascatas com numerosos elementos, facilitando o cruzamento entre elas. Assim, torna-se evidente que o efeito anti-hipertrófico do *NO é feito por meio da modulação negativa das vias pró-hipertróficas, já que a via dependente de GMPc desempenha um papel central nesse efeito. Contudo, o *NO não bloqueia apenas uma das vias de sinalização intracelular, o que não seria suficiente para prevenir eficientemente o crescimento hipertrófico ventricular. Portanto, a HVE parece desenvolver-se em decorrência da perda do balanço entre as vias de sinalização pró e anti-hipertróficas. Esses novos conhecimentos sobre as vias de sinalização pró e anti-hipertróficas permitirão desenvolver novas estratégias no tratamento das HVE patológicas.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de doutorado de José Antonio Dias Garcia pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Referências

1. Kannel WB. Prevalence and natural history of electrocardiographic left ventricular hypertrophy. *Am J Med.* 1983; 3: 4-11.
2. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation.* 2000; 102: 470-9.
3. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med.* 1999; 341: 1276-83.
4. Matsuoka H, Nakata M, Kohno K, Koga Y, Nomura G, Toshima H, et al. Chronic L-arginine administration attenuates cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1996; 27: 14-8.
5. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, Hirase T, Ohashi Y, Inoue N, et al. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase attenuates cardiac hypertrophy induced by chronic isoproterenol infusion. *Circ J.* 2002; 66: 851-6.
6. Wollert KC, Drexler H. Regulation of cardiac remodeling by nitric oxide: focus on cardiac myocyte hypertrophy and apoptosis. *Heart Fail Rev.* 2002; 7: 317-25.
7. Kempf T, Wollert KC. Nitric oxide and the enigma of cardiac hypertrophy. *Bioessays.* 2004; 6: 608-15.
8. Russell B, Motlagh D, Ashley WW. Form follows function: how muscle shape is regulated by work. *J Appl Physiol.* 2000; 88: 1127-32.
9. Pereira FEL. Hipertrofia cardíaca: aspectos morfológicos e patogenéticos. In Vassale DV, Lima EG (eds). *Contratilidade miocárdica: aspectos básicos e clínicos.* São Paulo: BYK, 1993. p. 13-28.
10. Morgan HE, Gordon EE, Kira Y, Chua BHL, Russo LA, Peterson CI, et al. Biochemical mechanisms of cardiac hypertrophy. *Ann Rev Physiol.* 1987; 49: 533-43.
11. Von Harsdorf R, Kang RE, Fullerton M, Woodcock EA. Myocardial stretch stimulates phosphatidylinositol turnover. *Circ Res.* 1989; 65: 494-501.
12. Sussman A, McCulloch A, Borg TK. Dance band on the titanic: biomechanical signaling in cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2002; 91: 888-98.
13. Burridge K, Chrzanowska-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signaling. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1996; 12: 463-519.
14. Dash R, Schmidt AG, Pathak A, Gerst MJ, Biniakiewicz D, Kadambi VJ, et al. Differential regulation of p38 mitogen-activated protein kinase mediates gender-dependent catecholamine-induced hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 2003; 57: 704-14.
15. Campos LA, Iliescu R, Fontes M, Schlegel WP, Bader M, Baltatu OC. Enhanced isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006; 291 (5): H2371-6.
16. Shubeita HE, Martinson EA, Van Bilsen M, Chien KR, Brow JH. Transcriptional activation of the cardiac myosin light chain 2 and atrial natriuretic factor genes by protein kinase C in neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 89: 1305-9.
17. Lindpaintner K, Ganten D. The cardiac rennin-angiotensin system: an appraisal of present experimental and clinical evidence. *Circ Res.* 1991; 68 (1): 905-21.
18. Shirai H, Takahashi K, Katada T, Inagami T. Mapping of G protein coupling sites of the angiotensin II type 1 receptor. *Hypertension.* 1995; 25: 726-30.
19. Bernstein KE, Ali MS, Sayeski PP, Semeniuk D, Marrero MB. New insights into the cellular signaling of seven transmembrane receptors: the role of tyrosine phosphorylation. *Lab Invest.* 1998; 78: 3-7.
20. Mukoyama M, Nakajima M, Horiuchi M, Sasamura H, Pratt RE, Dzau VJ.

Artigo de Revisão

- Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors. *J Biol Chem*. 1993; 268 (33): 24539-42.
21. Senbonmatsu T, Ichihara S, Price E, Gaffney FA, Inagami T. Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload. *J Clin Invest*. 2000; 106: R25-R29.
22. Harada K, Komuro I, Shiojima I, Hayashi D, Kudoh S, Mizuno T, et al. Pressure overload induces cardiac hypertrophy in angiotensin II type 1A receptor knockout mice. *Circulation*. 1998; 97: 1952-9.
23. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414: 799-806.
24. Velloso LA, Carvalho CR, Rojas FA, Folli F, Saad MJ. Insulin signalling in heart involves insulin receptor substrates-1 and -2, activation of phosphatidylinositol 3-kinase and the JAK 2- growth related pathway. *Cardiovasc Res*. 1998; 40: 96-102.
25. Araujo EP, De Souza CT, Gasparetti AL, Ueno M, Boschero AC, Saad MJ, et al. Short-term in vivo inhibition of insulin receptor substrate-1 expression leads to insulin resistance, hyperinsulinemia, and increased adiposity. *Endocrinology*. 2005; 146: 1428-37.
26. Zecchin HG, Carvalheira JBC, Saad MJA. Resistência à insulina, diabetes e hipertensão: bases fisiopatológicas. *Rev Bras Hipertens*. 2004; 11 (2): 124-7.
27. Gao F, Gao E, Yue TL, Ohlstein EH, Lopez BL, Christopher TA, et al. Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion: the roles of PI3-kinase, Akt, and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation*. 2002; 105 (12): 1497-502.
28. Sykiotis GP, Papavassiliou AG. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1: a novel target for the reversal of insulin resistance. *Mol Endocrinol*. 2001; 15: 1864-9.
29. Brownsey RW, Boone AN, Allard MF. Actions of insulin on the mammalian heart: metabolism, pathology and biochemical mechanisms. *Cardiovasc Res*. 1997; 34: 3-24.
30. Samuelsson AM, Bollano E, Mobini R, Larsson BM, Omerovic E, Fu M, et al. Hyperinsulinemia: effect on cardiac mass/function, angiotensin II receptor expression, and insulin signaling pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 291: H787-H796.
31. Lang D, Moser SI, Shakesby A, Donaldson F, Lewis MJ. Coronary microvascular endothelial cell redox state in left ventricular hypertrophy: the role of angiotensin II. *Circ Res*. 2000; 86: 463-9.
32. Sato K, Komaru T, Shioiri H, Takeda S, Takahashi K, Kanatsuka H, et al. Hypercholesterolemia impairs transduction of vasodilator signals derived from ischemic myocardium: myocardium-microvessel cross-talk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24 (11): 2034-9.
33. Aikawa R, Nagai T, Tanaka M, Zou Y, Ishihara T, Takano H, et al. Reactive oxygen species in mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 289: 901-7.
34. Yao EH, Yu Y, Fukuda N. Oxidative stress on progenitor and stem cells in cardiovascular diseases. *Curr Pharm Biotechnol*. 2006; 7: 101-8.
35. Li JM, Shah AM. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004; 287: R1014-R1030.
36. Genda S, Miura T, Miki T, Ichikawa Y, Shimamoto K. K(ATP) channel opening is an endogenous mechanism of protection against the no-reflow phenomenon but its function is compromised by hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40 (7): 1339-46.
37. Lee TM, Lin MS, Chou TF, Tsai CH, Chang NC. Effect of pravastatin on left ventricular mass by activation of myocardial KATP channels in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. 2004; 176: 273-8.
38. Lee TM, Lin SM, Chou TF, Chang NC. Effect of simvastatin on left ventricular mass in hypercholesterolemic rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 288: H1352-H1358.
39. Sugden PH. Signaling pathways activated by vasoactive peptides in the cardiac myocytes and their role in the myocardial pathologies. *J Card Fail*. 2002; 8 (6): S359-69.
40. Kai H, Kuwahara F, Tokuda K, Imaizumi T. Diastolic dysfunction in hypertensive hearts: roles of perivascular inflammation and reactive myocardial fibrosis. *Hypertens Res*. 2005; 28 (6): 483-90.
41. Aubin MC, Carrier M, Shi YF, Tardif JC, Perrault LP. Role of probucol on endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries associated with left ventricular hypertrophy. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006; 47 (5): 702-10.
42. Vishnevetsky D, Kiyamita VA, Gandhi PJ. CD40 ligand: a novel target in the fight against cardiovascular disease. *Ann Pharmacother*. 2004; 38 (9): 1500-8.
43. Gelbmann CM, Leeb SN, Vogl D, Maendel M, Herfarth H, Scholmerich J, et al. Inducible CD40 expression mediates NFkappaB activation and cytokine secretion in human colonic fibroblasts. *Gut*. 2003; 52 (10): 1448-56.
44. Vellaichamy E, Sommana NK, Pandey KN. Reduced cGMP signaling activates NF-kappaB in hypertrophied hearts of mice lacking natriuretic peptide receptor-A. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 327(1): 106-11.
45. Hansson GK. Mechanisms of disease: inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005; 352: 1685-95.
46. Wollert KC, Taga T, Saito M, Narazaki M, Kishimoto T, Glembotski CC, et al. Cardiotrophin-1 activates a distinct form of cardiac muscle cell hypertrophy: assembly of sarcomeric units in series VIA gp130/ leukemia inhibitory factor receptor-dependent pathways. *J Biol Chem*. 1996; 271: 9535-45.
47. Peng J, Gurantz D, Tran V, Cowling RT, Greenberg BH. Tumor necrosis factor-alpha-induced AT1 receptor upregulation enhances angiotensin II-mediated cardiac fibroblast responses that favor fibrosis. *Circ Res*. 2002; 91: 1119-26.
48. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest*. 1997; 100: 2153-7.
49. Balligand JL, Kobzik L, Han X, Kaye DM, Belhassen L, O'hara DS, et al. Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 1995; 270: 14582-6.
50. Balligand JL, Cannon PJ. Nitric oxide synthases and cardiac muscle autocrine and paracrine influences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 1846-58.
51. Schulz R, Smith JA, Lewis MJ, Moncada S. Nitric oxide synthase in cultured endocardial cells of the pig. *Br J Pharmacol*. 1991; 104: 21-4.
52. Klimaschewski L, Kummer W, Mayer B, Couraud JY, Preissler U, Philippin B, et al. Nitric oxide synthase in cardiac nerve fibers and neurons of rat and guinea pig heart. *Circ Res*. 1992; 71: 1533-7.
53. Tambascia RC, Fonseca PM, Corat PDC, Moreno H, Saad MJA, Franchini KG. Expression and distribution of NOS1 and NOS3 in the myocardium of angiotensin II infused rats. *Hypertension*. 2000; 37: 1423-8.
54. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res*. 1999; 43 (3): 521-31.
55. Xu KY, Kuppusamy SP, Wang JQ, Li H, Cui H, Dawson TM, et al. Nitric oxide protects cardiac sarcolemmal membrane enzyme function and ion active transport against ischemia-induced inactivation. *J Biol Chem*. 2003; 278 (43): 41798-803.
56. Bubikat A, De Windt LJ, Zetsche B, Fabritz L, Sickler H, Eckardt D, et al. Local atrial natriuretic peptide signaling prevents hypertensive cardiac hypertrophy in endothelial nitric-oxide synthase-deficient mice. *J Biol Chem*. 2005; 280 (22): 21594-9.
57. Ziolo MT, Bers DM. The real estate of NOS signaling: location, location, location. *Circ Res*. 2003; 92: 1279-81.
58. Barouch LA, Cappola TP, Harrison RW, Crone JK, Rodriguez ER, Burnett AL, et al. Combined loss of neuronal and endothelial nitric oxide synthase causes premature mortality and age-related hypertrophic cardiac remodeling in mice. *J Mol Cell Cardiol*. 2003; 35: 637-44.
59. Fiedler B, Wollert KC. Interference of antihypertrophic molecules and signaling pathways with the Ca2+-calcineurin-NFAT cascade in cardiac myocytes. *Cardiovasc Res*. 2004; 63 (3): 450-7.
60. Cheng TH, Shih NL, Chen SY, Lin JW, Chen YL, Chen CH, et al. Nitric oxide inhibits endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy through cGMP-mediated suppression of extracellular-signal regulated kinase phosphorylation. *Mol Pharmacol*. 2005; 68 (4): 1183-92.
61. Bush PK, Bartkova J, Strom CC, Wulf-Andersen L, Hinrichsen R, Christoffersen

- TE, et al. Involvement of cyclin D activity in left ventricle hypertrophy in vivo and in vitro. *Cardiovasc Res.* 2002; 56: 64-75.
62. Massion PB, Feron O, Dessy C, Balligand JL. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing. *Circ Res.* 2003; 93 (5): 388-98.
63. Hirata K, Nathanson MH, Burgstahler AD, Okazaki K, Mattei E, Sears ML. Relationship between inositol 1,4,5-trisphosphate receptor isoforms and subcellular Ca²⁺ signaling patterns in nonpigmented ciliary epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999; 40 (9): 2046-53.
64. Baker JE, Contney SJ, Singh R, Kalyanaraman B, Gross GJ, Bosnjak ZJ. Nitric oxide activates the sarcolemmal K(ATP) channel in normoxic and chronically hypoxic hearts by a cyclic GMP-dependent mechanism. *J Mol Cell Cardiol.* 2001; 33 (2): 331-41.
65. Wollert KC, Fiedler B, Gambaryan S, Smolenski A, Heineke J, Butt E, et al. Gene transfer of cGMP-dependent protein kinase I enhances the antihypertrophic effects of nitric oxide in cardiomyocytes. *Hypertension.* 2002; 39: 87-92.
66. Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res.* 1998; 82 (11): 1111-29.
67. Xie K, Huang S, Wang Y, Beltran PJ, Juang SH, Dong Z, et al. Bcl-2 protects cells from cytokine-induced nitric-oxide-dependent apoptosis. *Cancer Immunol Immunother.* 1996; 43: 109-15.
68. Ing DJ, Zang J, Dzau VJ, Webster KA, Bishopric NH. Modulation of cytokine-induced cardiac myocyte apoptosis by nitric oxide, Bak, and Bcl-x. *Circ Res.* 1999; 84: 21-33.
69. Davies MC, Fulton CJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg.* 1995; 82: 1598-610.
70. Wong GKT, Marsden PA. Nitric oxide synthases: regulation in disease. *Nefron Dial transplant.* 1996; 11: 215-20.
71. Arstall MA, Sawyer DB, Fukazawa R, Kelly RA. Cytokine-mediated apoptosis in cardiac myocytes: the role of inducible nitric oxide synthase induction and peroxynitrite generation. *Circ Res.* 1999; 85: 829-40.
72. Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, Mullins ME, Jaraki O, Michel T, et al. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 89: 444-8.
73. Jaworski K, Kinard F, Goldstein D, Holvoet P, Trouet A, Schneider YJ, et al. S-nitrosothiols do not induce oxidative stress, contrary to other nitric oxide donors, in cultures of vascular endothelial or smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol.* 2001; 425 (1): 11-9.
74. Ignarro J, Napoli C, Loscalzo J. Nitric oxide donors and cardiovascular agents modulating the bioactivity of nitric oxide. *Cir Res.* 2002; 90: 21-8.
75. Taylor-McCabe KJ, Erasahin C, Simmons WH. Bradykinin metabolism in the isolated perfused rabbit heart. *J Hypertens.* 2001; 19: 1295-9.
76. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and inhibition of converting enzyme. *Eur Heart J.* 1998; 19 (Suppl): J7-J15.
77. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations in vasomotor tone. *J Clin Invest.* 1996; 97: 1916-23.
78. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med.* 1992; 326: 90-4.