

Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares

Kleber G. Franchini

Resumo

A hipertrofia cardíaca é, na maioria dos casos, um processo adaptativo do miocárdio a sobrecargas hemodinâmicas crônicas e, paradoxalmente, constitui-se em fator de risco de morbi-mortalidade cardiovascular. Basicamente a hipertrofia cardíaca decorre do aumento das dimensões dos cardiomiócitos, no entanto, proliferação de tecido conjuntivo intersticial também é observada, dependendo da intensidade do processo hipertrófico. O crescimento hipertrófico dos cardiomiócitos decorre de aumento quantitativo das proteínas estruturais e contráteis, mas durante o estabelecimento da hipertrofia são também re-expressos genes característicos da vida fetal como algumas isoformas de proteínas contráteis, o fator natriurético atrial e a enzima conversora da angiotensina I, o que confere características fenotípicas de imaturidade à

célula hipertrófica. Múltiplos mecanismos podem contribuir para o desenvolvimento da hipertrofia, mas sua estreita relação com a carga hemodinâmica imposta ao coração indica a predominância de fatores mecânicos, como tensão e deformação, como os principais estímulos para o desenvolvimento e a manutenção da hipertrofia dos cardiomiócitos. Mecanismos associados ao citoesqueleto e canais iônicos sensíveis ao estiramento são propostos como responsáveis pela transdução mecano-bioquímica em miócitos cardíacos. Múltiplas vias intracelulares que envolvem GTPases, quinases ativadas por mitógenos e fatores de transcrição como o MEF2, NFAT3 e GATA4 estão envolvidas no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Portanto, a hipertrofia cardíaca é um fenômeno adaptativo complexo do miocárdio que depende, para sua instalação, da mobilização de múltiplos mecanismos de sinalização envolvidos no crescimento celular.

Palavras-chave: Hipertrofia cardíaca; Crescimento celular; Hipertensão arterial; Insuficiência cardíaca; Sistema cardiovascular.

Recebido: 17/09/00 – Aceito: 23/01/01

Rev Bras Hipertens 8: 125-42, 2001

Introdução

A maior parte das doenças cardíacas acompanha-se de aumento da massa miocárdica. Como os miócitos

cardíacos são células com possibilidade extremamente restrita de se dividirem na vida adulta, o processo de aumento de massa miocárdica nas doenças cardíacas se dá por hipertrofia. A hiper-

trofia se manifesta por espessamento absoluto ou relativo das paredes das câmaras devido ao aumento nas dimensões dos cardiomiócitos^{1,2}. Em algumas situações, a proliferação do tecido

Correspondência:

Departamento de Clínica Médica – Faculdade de Ciências Médicas,
Universidade Estadual de Campinas – Cidade Universitária “Zefferino Vaz” – CEP 13081-970 Campinas - SP, Brasil.
Tel.: (0xx19) 3788-8951 – Fax: (0xx19) 3788-8950 – E-mail: franchin@obelix.unicamp.br

Os estudos do laboratório referenciados nesta revisão foram financiados por auxílios da FAPESP – Fundação de Auxílio à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. 98/11403-7 e CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Proc. 521098/97-1).

intersticial também contribui para as alterações estruturais em corações hipertroficados. Hipertrofias conseqüentes a sobrecargas de pressão, de volume e devida ao treinamento físico, apresentam características fenotípicas e funcionais distintas, mas têm como fator patogênico comum o aumento da carga hemodinâmica imposta ao coração. Assim, a hipertrofia cardíaca é considerada um processo adaptativo do miocárdio a sobrecargas hemodinâmicas crônicas. No entanto, paradoxalmente, a hipertrofia miocárdica independentemente de sua causa está associada a maior morbidade e mortalidade dos portadores³. As razões desse paradoxo são pouco conhecidas. É possível que o mecanismo adaptativo se acompanhe (dependendo da intensidade e duração do estímulo e de fatores coadjuvantes como ativação neuro-humoral, fatores genéticos, etc.) de alterações intrínsecas dos miócitos cardíacos ou de outras células miocárdicas predispondo a um déficit do relaxamento, falência contrátil e instabilidade elétrica do coração⁴.

Apesar de alguns mecanismos comuns estarem envolvidos no desenvolvimento dos vários tipos de crescimento hipertrofico do miocárdio, nesta revisão serão discutidos os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de hipertrofia do ventrículo esquerdo por sobrecarga de pressão, restritos aos fenômenos que ocorrem ou afetam os cardiomiócitos. Serão abordados 1) marcadores fenotípicos de hipertrofia cardíaca; 2) natureza do estímulo para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca; 3) mecanismos de mecanotransdução e 4) vias e mecanismos de sinalização celular envolvidos no crescimento hipertrofico.

Marcadores fenotípicos de hipertrofia

O aumento da massa do ventrículo esquerdo é a característica fenotípica

de hipertrofia mais facilmente detectável. Quando provocada por sobrecarga pressora, em modelos experimentais ou em seres humanos, se caracteriza por aumento na espessura da parede e redução discreta ou manutenção do diâmetro da cavidade ventricular esquerda, determinando o que se conhece por hipertrofia concêntrica^{5,6}. Estudos em corações obtidos de necrópsias indicam que a massa do ventrículo esquerdo em humanos é ≤ 175 g em indivíduos adultos de porte médio, não ultrapassando 215 g em indivíduos de grande porte físico⁷. Estudos com ecocardiografia demonstraram que a massa do ventrículo esquerdo é ≤ 134 g/m² em homens e ≤ 109 g/m² em mulheres, sendo valores superiores a estes indicativos de hipertrofia cardíaca⁸⁻¹⁰. Já estudos que utilizaram ressonância nuclear magnética detectaram valores da massa do ventrículo esquerdo de 113 g/m² em homens e 95 g/m² em mulheres¹¹.

Em modelos experimentais pode-se avaliar, além da massa miocárdica, a estrutura e ultraestrutura histológica, o que possibilita a avaliação das dimensões e números dos miócitos e outras células miocárdicas, bem como de suas organelas¹². O padrão de crescimento dos cardiomiócitos em condições de sobrecarga pressora é consistente com o conceito de hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, ocorrendo aumento significativo da área transversal, sem variação significativa do número de cardiomiócitos¹². No entanto, tanto em modelos experimentais quanto em corações hipertrofiados de humanos, principalmente nas situações de hipertrofia intensa, os cardiomiócitos apresentam poliploidia, o que indica multiplicação do material genético¹³. Em cardiomiócitos hipertroficados, a razão entre a área de superfície e o volume celular é menor que o normal¹². Ocorre aumento acentuado

do número de miofibrilas por sarcômero (em paralelo) e de sarcômeros em série. A área das estruturas membranosas como as mitocôndrias e o retículo sarcoplasmático aumenta proporcionalmente ao crescimento do miócito, mas o volume e o número das mitocôndrias não aumentam proporcionalmente ao aumento dos cardiomiócitos. Assim, ocorre redução da razão entre o volume mitocondrial e o volume de miofibrilas por cardiomiócito. Nas hipertrofias compensadas, no entanto, o aumento do número de cristas mitocondriais impede um desequilíbrio entre a capacidade de produção de energia e a massa dos miócitos hipertroficados. É interessante ressaltar que nas primeiras 24 horas após o estabelecimento de sobrecarga pressora o crescimento mitocondrial excede o miofibrilar levando a uma elevação transitória da razão do volume mitocondrial pelo volume de miofibrilas. Esse fenômeno está associado com a síntese de proteínas da membrana mitocondrial interna, envolvidas nos processos de fosforilação oxidativa^{12,14}.

Em situações experimentais onde a carga pressora é aumentada subitamente por constrição da aorta o crescimento da massa ventricular esquerda é relativamente rápido. Em ratos submetidos a constrições de 30% a 40% do diâmetro da aorta, aumentos da massa do ventrículo esquerdo são detectados após cerca de 48 horas^{12,15}. Aumentos de 30% a 40% na massa foram encontrados em períodos de 5 a 30 dias após a constrição^{15,16}. Estudos que utilizaram incorporação de aminoácidos marcados radioativamente em proteínas miocárdicas demonstraram que a ativação da síntese de proteínas em miócitos de corações submetidos a sobrecarga pressora é um fenômeno rápido, homogêneo e obedece padrão semelhante ao observado no cresci-

mento da massa cardíaca e aumento nas dimensões dos miócitos¹².

Durante o crescimento hipertrófico do miocárdio, além do aumento da expressão de proteínas contráteis, estruturais e relacionadas às vias metabólicas, ocorre modificação no padrão de expressão de algumas proteínas contráteis para isoformas do padrão fetal e também a re-expressão de proteínas do programa fetal¹⁷. As razões e as possíveis vantagens ou desvantagens dessas modificações qualitativas nas proteínas dos cardiomiócitos não são ainda adequadamente conhecidas. No entanto, a detecção das mesmas nos diversos modelos experimentais e nos indivíduos adultos com hipertrofia miocárdica permite seu uso como marcadores fenotípicos de hipertrofia.

A miosina foi a primeira proteína contrátil com mudança de isoforma durante a hipertrofia caracterizada¹⁷. A molécula de miosina é composta de um par de cadeias pesadas (MHC – myosin heavy chain; α e β) e dois diferentes pares de cadeias leves (MLC – myosin light chain), MLC1 e MPLC2. Três isoenzimas V1, V2 e V3 são expressas no miocárdio nas diversas espécies, todas com os mesmos pares de MLC1 e MPLC2, diferindo apenas na composição das MHC: $\alpha\alpha$ em V1, $\alpha\beta$ em V2 e $\beta\beta$ em V3. O sítio ativo da ATPase está localizado nas cadeias MHC. A isoforma $\alpha\alpha$ -MHC tem a maior e a $\beta\beta$ a menor atividade ATPásica. Em resposta a sobrecargas, ocorre inibição da expressão do gen que codifica a isoforma rápida (α -MHC) e ativação do gen que codifica a isoforma lenta (β -MHC)¹⁸⁻²¹. A intensidade com que esta alteração é observada na hipertrofia cardíaca depende do tipo de sobrecarga e da espécie estudada. Em ratos a isoforma $\alpha\alpha$ predomina em corações normais enquanto em seres humanos a isoforma que predomina é a $\beta\beta$ ¹⁷. Durante sobrecargas

pressoras crônicas em ratos ocorre modificação da predominância de V1 para V3, enquanto em humanos esta modificação não é tão acentuada uma vez que a isoforma predominante em condições normais já é a V3. Em modelos de sobrecarga pressora em ratos, aumentos no mRNA para isoforma $\beta\beta$ são detectados em cerca de 2 horas a partir do início da sobrecarga, atingindo um máximo entre o segundo e o terceiro dias após a constrição da aorta¹⁷. Em modelos experimentais de sobrecarga pressora, além da MHC ocorre mudança de domínio da forma adulta para a forma embrionária da MLC (normalmente esta isoforma é expressa apenas em átrios dos animais adultos) em ventrículo esquerdo¹⁷. A isoforma de actina α , encontrada no músculo esquelético de animais adultos e no miocárdio na fase embrionária também é expressa em ventrículo esquerdo submetido a sobrecarga crônica¹⁷.

Além das isoformas fetais e embrionárias das proteínas contráteis, a sobrecarga induz à re-expressão de genes expressos no período fetal em miocárdio ventricular tais como o ANP, a enzima conversora da angiotensina I, a subunidade β da creatina quinase e subunidade M da lactato desidrogenase^{17,22,23}.

Estudos em cardiomiócitos isolados permitem uma avaliação mais específica dos efeitos dos estímulos hipertróficos, além de caracterização das vias de sinalização envolvidas no desenvolvimento de hipertrofia²⁴⁻²⁶. Os modelos de cardiomiócitos isolados incluem cardiomiócitos de ratos neonatos e adultos mantidos em monocamada em cultura primária, segmentos de músculo papilar e mais recentemente cardiomiócitos cultivados em meios tridimensionais envoltos por matrix de colágeno²⁴⁻²⁸. Dificuldades técnicas na obtenção de miócitos de ratos adultos e a faci-

lidade de obtenção de miócitos de ratos neonatos em cultura primária determinaram que grande parte dos estudos fossem realizados neste tipo de célula. Assim, técnica de cultura primária de miócitos cardíacos de ratos neonatos é largamente utilizada, particularmente no mapeamento de vias de sinalização envolvendo a geração de fenótipos hipertróficos. Nesse caso, o fenótipo característico de hipertrofia é um aumento do volume celular, geralmente medido como aumento na área, já que as células são delgadas, e aumento na síntese de proteínas, com um acúmulo de proteínas contráteis e organização das mesmas em unidades sarcoméricas²⁴⁻²⁶. Além disso, as isoformas fetais das várias proteínas discutidas anteriormente são re-expressas pelos miócitos hipertrofiados e podem ser utilizadas como marcadores moleculares de hipertrofia²⁹.

Mais recentemente, foram utilizados miócitos cardíacos cultivados em estrutura tridimensional semelhante àquela do tecido cardíaco para a avaliação do crescimento hipertrófico dessas células. Essa preparação permite que as células contraíam-se sincronicamente, sendo possível avaliar o impacto de intervenções na força de contração, na cinética e frequência de contração juntamente com parâmetros morfológicos e moleculares na mesma amostra sob condições definidas *in vitro*²⁸. Miócitos cardíacos de ratos neonatos crescendo em meios tridimensionais sobrevivem por até cinco semanas e apresentam todas as características de crescimento hipertrófico quando submetidos a estiramento²⁸.

Natureza do estímulo

Existem evidências clínicas e experimentais que relacionam quantitativamente sobrecarga hemodinâmica crônica com o grau de hipertrofia^{5,30}.

A exceção é representada pela cardiomiopatia hipertrófica familiar onde a hipertrofia é, por si, a doença, independentemente de qualquer sobrecarga hemodinâmica identificável. Os mecanismos responsáveis pela transdução do sinal representado pela sobrecarga hemodinâmica em sinais bioquímicos que induzem o crescimento celular não foram ainda totalmente esclarecidos. O estímulo mecânico é suficiente para produzir todas as características do fenótipo de hipertrofia. No entanto, fatores de natureza neural, autócrina/parácrina, hormonal e genética podem contribuir para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca.

Estímulo mecânico: Os efeitos mecânicos da sobrecarga hemodinâmica se fazem sentir no miocárdio através de aumento de tensões sistólica e diastólica que se refletem em aumento de tensão e estiramento dos cardiomiócitos, fibroblastos e matrix extracelular^{5,31-34}. Essas variáveis mecânicas podem ativar mecanismos de crescimento celular em cardiomiócitos sobrecarregados. No entanto, aumento do trabalho cardíaco provocado por sobrecarga também aumenta a demanda de energia que, por sua vez, pode governar o crescimento celular³⁵. No entanto, a existência desse mecanismo aguarda confirmação.

Evidências da relação entre o estímulo mecânico e o crescimento hipertrófico do miocárdio são indicadas pela correlação entre a massa do ventrículo esquerdo e os níveis de pressão em valvulopatas e hipertensos^{36,37}. Em estudos experimentais essa relação é ainda mais evidente. Dentre os estudos que indicaram a relação entre estímulo mecânico e o crescimento hipertrófico cardíaco merece destaque um estudo realizado em gatos submetidos a bandagem da artéria pulmonar³⁴.

Foram comparados os efeitos da sobrecarga hemodinâmica em músculos papilares desinseridos da parede ventricular direita em uma das extremidades com aqueles normalmente inseridos e, portanto, sujeitos à sobrecarga a que todo o miocárdio ventricular direito estava submetido. Os efeitos do simpático foram eliminados por desnervação do ventrículo direito ou por bloqueio duplo α e β -adrenérgico. Constatou-se que a área de secção transversal dos cardiomiócitos apresentou correlação estreita com a carga mecânica no músculo papilar, efeito não influenciado pela desnervação ou bloqueio simpático farmacológico. Esses resultados indicaram que o crescimento hipertrófico do miocárdio depende das condições de carga local no músculo cardíaco e não da carga global imposta ao coração ou de fatores circulantes que pudessem afetar de maneira indistinta os cardiomiócitos de todo o coração³⁴.

Outras evidências de que o estímulo mecânico, na ausência de fatores neurais ou hormonais, é o principal determinante das respostas hipertróficas do miocárdio foram obtidas em estudos que utilizaram corações isolados submetidos a aumentos na pressão intraventricular^{38,39}, músculos papilares estirados *in vitro*⁴⁰ e miócitos isolados em cultura submetidos a estiramento^{28,41,42}. Nessas condições, o estímulo mecânico é suficiente para determinar o fenótipo morfológico e molecular de hipertrofia^{26,37,43-46}. Portanto, as evidências disponíveis permitem a conclusão de que o estímulo mecânico é suficiente para desencadear o processo de hipertrofia e a reprogramação gênica associada ao processo de hipertrofia dos miócitos cardíacos.

Estímulo simpático: A contribuição do sistema nervoso simpático para o desenvolvimento de hipertrofia

cardíaca continua indeterminada. O conceito de que a atividade simpática modula a hipertrofia miocárdica foi estabelecido a partir de estudos nos quais a administração de catecolaminas em doses subpressoras induziu ao aparecimento de hipertrofia ventricular esquerda⁴⁷⁻⁵⁰. Deve-se salientar, no entanto, que na maioria desses estudos causas hemodinâmicas outras que não a pressão arterial não foram completamente excluídas como determinantes do crescimento hipertrófico. Fatores como contratilidade miocárdica, frequência cardíaca, volemia e mesmo a pressão arterial medida em longo prazo foram alterados pela infusão de catecolaminas ou não foram monitoradas nos vários estudos, o que poderia justificar o aparecimento de hipertrofia. Outras evidências para a participação do simpático no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca são o paralelismo entre a atividade simpática e a hipertrofia miocárdica em algumas condições experimentais^{51,52} e clínicas⁵³ e o efeito de regressão da hipertrofia provocado por intervenções simpatolíticas^{54,55}. Da mesma forma, essas intervenções afetam parâmetros hemodinâmicos que poderiam estar envolvidos no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, não permitindo conclusão sobre a participação da atividade simpática no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Mencionam-se ainda os estudos que demonstraram desenvolvimento de hipertrofia em modelos onde o simpático foi eliminado cirúrgica ou farmacologicamente³⁷. Por outro lado, em pacientes com feocromocitoma, a situação clínica que deveria representar um modelo adequado para a avaliação da importância do sistema simpático no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, o aumento de massa ventricular esquerda é apenas proporcional à carga pressora^{66,67}.

Investigações conduzidas em cardiomiócitos de ratos neonatos são mais consistentes em relação à indução de fenótipos característicos de hipertrofia por catecolaminas^{24,25,37,41,56}. Essas células apresentam aumento da síntese protéica, crescimento e expressão de α -actina esquelética e β -MHC após exposição ao isoproterenol ou norepinefrina^{24,25,29,56}. Demonstrou-se que esta resposta é dependente da estimulação α -adrenérgica e mediada pelo subtipo α_{1A} de receptor⁵⁷. No entanto, a relevância de estudos em cardiomiócitos de animais neonatos é questionável em virtude de suas características fenotípicas, diferentes das células de animais adultos. Em estudos que utilizaram cardiomiócitos obtidos de animais adultos^{58,59,61,62} os resultados são conflitantes. Em pelo menos um dos estudos realizados com esse tipo celular não se conseguiu demonstrar efeito de crescimento após tratamento com agente α -adrenérgico³⁷.

Mais recentemente, o efeito da atividade simpática sobre o crescimento hipertrófico do miocárdio foi explorado em modelos de camundongos transgênicos⁶³. Os resultados desses estudos também são conflitantes. Camundongos que expressam uma forma constitutivamente ativa de receptor α_{1B} especificamente no coração apresentam aumento da razão do peso do coração pelo peso corporal (~20%), aumento da área de secção transversal dos miócitos (~60%) e da quantidade de mRNA do fator natriurético atrial. Nesses animais a pressão arterial foi semelhante à dos camundongos controle. Esses resultados indicam que a sinalização contínua induzida pelo receptor α_{1B} pode induzir à hipertrofia ventricular esquerda independentemente de qualquer fator hemodinâmico. Essa situação, no entanto, também é artificial, já que situações de hiperatividade adrenérgica se acompanham de desen-

sibilização dos receptores adrenérgicos e não um aumento de sua atividade. Além disso, em modelo onde a forma natural do receptor α_{1B} (tipo selvagem) foi superexpressa não ocorreu hipertrofia cardíaca, apesar de ter aumentado a produção de mRNA do ANF⁶⁴. Por outro lado, a expressão de $G\alpha_q$, o efetor imediato do receptor α_1 -adrenérgico, resultou também em aumento do peso do coração, área do miócito e expressão de genes típicos da resposta hipertrófica⁶⁵. Esses efeitos somente foram observados em animais com níveis bastante elevados de $G\alpha_q$. Nesses animais ocorreu simultaneamente depressão marcante da função miocárdica ou falência cardíaca. Esses resultados indicam que os efeitos observados na massa miocárdica, dimensões dos miócitos cardíacos e re-expressão de genes fetais poderiam dever-se à sobrecarga hemodinâmica imposta pela falência cardíaca induzida pela ativação permanente de vias adrenérgicas intracelulares e não a um efeito hipertrófico direto da mesma.

Portanto, as evidências experimentais disponíveis ainda não permitem uma conclusão definitiva sobre a importância do simpático no desenvolvimento de hipertrofia cardíaca por sobrecarga hemodinâmica. Deve-se salientar que, apesar de se ter dúvidas quanto à participação do simpático no processo de hipertrofia, o mesmo não pode ser dito quanto a sua importância no processo de deterioração da função cardíaca em corações hipertrofiados.

Ativação do sistema renina-angiotensina: O interesse pelo envolvimento do sistema renina-angiotensina no desenvolvimento da hipertrofia ventricular iniciou-se após estudos clínicos e experimentais que demonstraram que o tratamento com inibidores da enzima conversora da angiotensina I (iECA) reduz o crescimento hipertrófico e o remodelamento das câmaras cardíacas em

pacientes hipertensos e com cardiopatia isquêmica⁶⁸. Apesar de este efeito poder ser dependente de redução da carga hemodinâmica imposta ao coração, a contribuição do sistema renina-angiotensina para a hipertrofia ventricular também é apoiada pela constatação de que a angiotensina II ativa o crescimento de cardiomiócitos e que no miocárdio são expressos todos os elementos do sistema, sendo possível sua produção e regulação local⁶⁹.

Experimentalmente, tratamento de ratos com coarctação da aorta com inibidor da enzima conversora ou bloqueador de receptor AT_1 preveniram ou causaram regressão da hipertrofia ventricular esquerda⁷⁰⁻⁷². No entanto, tratamento com hidralazina nos mesmos estudos também impediu o aparecimento de hipertrofia cardíaca, indicando que redução na carga hemodinâmica, e não um bloqueio específico do sistema renina-angiotensina, é o responsável pelo fenômeno de regressão ou impedimento do aparecimento da hipertrofia nesse modelo. Por outro lado, os vários elementos do sistema renina-angiotensina cardíaco são ativados durante condições de sobrecarga hemodinâmica^{69,73-75}, o que poderia indicar sua contribuição para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. As expressões de mRNA de angiotensinogênio, renina, ECA e receptor de angiotensina II estão aumentadas em modelos de sobrecarga pressora^{69,73,74,76}, bem como a quantidade de ECA, AT_1 e a porcentagem de miócitos contendo renina, angiotensina I e angiotensina II^{69,73,76}.

Estudos em cardiomiócitos de ratos neonatos indicaram que o estiramento cíclico dos mesmos acelera a expressão de angiotensinogênio, renina e ECA⁷⁷⁻⁷⁹ e causa aumento de cerca de 100 vezes na concentração de

angiotensina II no meio de cultura⁸⁰. Assim, supõe-se que o estiramento cause liberação parácrina/autócrina de angiotensina II que, por sua vez, induziria o crescimento celular. Essa idéia é fortalecida pelos resultados de estudos que mostraram que o tratamento de cardiomiócitos de ratos neonatos com inibidores do receptor AT₁ inibem o aparecimento dos marcadores de hipertrofia induzidos. Estudos em camundongos geneticamente modificados não apresentaram, até o momento, resultados que indiquem a participação do sistema renina-angiotensina no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca por sobrecarga hemodinâmica. Em camundongos *knock-out* para o receptor AT₁ da angiotensina II⁸², a bandagem da aorta produziu hipertrofia ventricular esquerda semelhante àquela observada em animais controle, indicando que estímulos provenientes da ativação dos receptores AT₁ não são fundamentais para o desenvolvimento da hipertrofia por sobrecarga pressora em animais intactos.

Fatores parácrinos/autócrinos:

Outros fatores parácrinos/autócrinos além do sistema renina-angiotensina cardíaco são considerados importantes para o estabelecimento da hipertrofia miocárdica. O envolvimento de fatores como FGF2 (*fibroblast growth factor*), IGF-I (*insulin growth factor-I*), TNF- α (*tumor necrosis factor*). Interleucina 1 β e endotelina têm sido estudadas em corações e em cardiomiócitos⁸³⁻⁸⁹. De maneira geral, as evidências das participações desses fatores no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca por sobrecarga hemodinâmica são baseadas em demonstrações de que os mesmos são produzidos no miocárdio em situações de sobrecarga e também que induzem à expressão de fenótipos estruturais e moleculares de hipertrofia quando administrados a animais ou cardiomiócitos isolados.

Aumentos do mRNA para o IGF-I e TGF- β foram observados em miócitos isolados de corações submetidos a sobrecarga pressora⁹⁰. Em miócitos cardíacos de ratos adultos submetidos a estímulo elétrico e a estímulo mecânico, o aparecimento de fenótipo de hipertrofia foi acompanhado de aumento de FGF2 no meio de cultura⁸⁶. A resposta hipertrófica nesse modelo foi bloqueada por anticorpo específico contra FGF2. Outras evidências para a contribuição do FGF para a hipertrofia cardíaca são baseadas nos efeitos da infusão sistêmica em animais e tratamento de cardiomiócitos em culturas com FGF⁸³. A adição de FGF2 em culturas de cardiomiócitos de ratos neonatos altera o perfil de expressão das proteínas contráteis para o padrão de expressão de genes fetais⁸³. No entanto, a administração crônica de FGF2 em ratos com infarto do miocárdio não se correlacionou com o desenvolvimento de hipertrofia^{90,91}. Portanto, apesar de ser possível a participação desses fatores parácrinos no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, sua contribuição permanece indefinida.

Fatores genéticos: Além dos fatores extrínsecos representados pela carga hemodinâmica e ação de fatores neuro-endócrinos e parácrinos/autócrinos, considera-se que fatores genéticos podem contribuir para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. A natureza dessa contribuição é ainda pouco conhecida. Em pelo menos uma condição, a da cardiomiopatia hipertrófica familiar, onde a hipertrofia cardíaca é a doença em si, a herança é autossômica dominante e em anos recentes demonstrou-se que mutações em vários genes codificadores de proteínas sarcoméricas são responsáveis pela doença⁹². O mecanismo pelo qual as mutações em proteínas sarcoméricas causam a hipertrofia não está esclarecido. No entanto, poderia dever-se

a um efeito dominante negativo, isto é, as proteínas mutadas poderiam se comportar como peptídeos bloqueadores interferindo com a função das outras proteínas sarcoméricas ou um desbalanço estequiométrico das proteínas sarcoméricas devido à falência do sarcômero de incorporar regularmente as proteínas mutadas (haploinsuficiência)⁹³.

Estudos sugerem que em indivíduos hipertensos, a hipertrofia cardíaca seja, em parte, determinada por fatores genéticos^{94,95}. Por exemplo, filhos normotensos de pais hipertensos têm massa ventricular esquerda maior que filhos de pais normotensos⁹⁶. Resultados de estudos em gêmeos reforçam a influência da hereditariedade na massa ventricular esquerda⁹⁵. Da mesma forma, a hipertrofia cardíaca é mais importante em negros que em brancos hipertensos, o que pode refletir influências genéticas⁹⁷. Em pelo menos um estudo experimental demonstrou-se que a hipertrofia em decorrência de bandagem da aorta depende da massa do ventrículo esquerdo anterior à sobrecarga⁹⁸. Cães com índice de massa ventricular esquerda maior apresentaram maior hipertrofia e melhor adaptação à sobrecarga pressora que cães com menor índice de massa ventricular esquerda.

Vários estudos de ligação indicaram a existência de influência de alguns *loci* na massa ventricular esquerda de ratos, dependentes e independentes do nível da pressão arterial⁹⁹⁻¹⁰⁴. Em nenhum dos casos os genes ligados ao fenótipo hipertrofia foram identificados.

Mecanismos de mecanotransdução em miócitos cardíacos

Como discutido anteriormente, a resposta hipertrófica é dependente,

em grande parte, do estímulo mecânico induzido pela sobrecarga hemodinâmica. São conhecidos pelo menos três tipos de mecanismos que podem ser responsáveis pela mecanotransdução em miócitos cardíacos, que incluem o complexo integrina/citoesqueleto, canais iônicos sensíveis a estiramento e secreção de substâncias parácrinas/autócrinas. Algumas propriedades são necessárias para que uma estrutura ou mecanismo comporte-se como mecanotransdutor: 1) deve existir alguma interação entre essa estrutura e a membrana celular de maneira que a tensão na membrana e superfície celular seja percebida; 2) a estrutura deve ser ativada pelo aumento de tensão na membrana e ser capaz de discriminar intensidades diferentes do estímulo mecânico e 3) estar acoplada com mecanismos intracelulares capazes de iniciar eventos em cascata que ativem vias de crescimento celular direta ou indiretamente. Os mecanismos discutidos a seguir preenchem pelo menos parte desses critérios.

Sistema integrina/citoesqueleto: De maneira geral, as células aderentes são sensíveis ao seu ambiente mecânico, sendo que forças mecânicas afetam sua função e estrutura¹⁰⁵. Sabe-se que o citoesqueleto, uma malha tridimensional intracelular formada por biopolímeros filamentosos transmite força e tensão para as estruturas intracelulares e imobiliza em sua estrutura muitas das moléculas sinalizadoras^{106,107}. Assim, a estrutura deformável do citoesqueleto fornece a base física para a transdução do sinal mecânico em sinal bioquímico conduzido por moléculas sinalizadoras intracelulares. O citoesqueleto apresenta acoplamento funcional e estrutural com a matrix extracelular através de proteínas transmembrana conhecidas como integrinas e com as demais células através de proteínas componentes dos

complexos juncionais como caderinas e anexinas, por exemplo. As integrinas são proteínas sem atividade enzimática definida, mas atuam como receptores celulares para o colágeno e também laminina. O estímulo mecânico gera tensão na célula e inicia mecanismos de sinalização celular através de interações entre as integrinas e o citoesqueleto^{106,108}. A ativação da sinalização celular por estímulo mecânico via citoesqueleto depende fundamentalmente de agregações das integrinas (*clustering*) que agem como elos entre a matrix extracelular e o citoesqueleto¹⁰⁹. As integrinas conectam-se a filamentos de F-actina através de proteínas intermediárias como a vinculina, talina e α -actinina em sítios especializados da membrana celular conhecidos como complexo de adesão focal^{109,110}. Seguindo-se ao estímulo mecânico, a agregação das integrinas leva a um aumento marcante da fosforilação em tirosina de enzimas como Src e Fak e o recrutamento de várias proteínas celulares sinalizadoras pela malha de actina¹¹¹⁻¹¹³. O mecanismo preciso que estabelece o vínculo entre a agregação da integrina e a ativação da Fak é ainda desconhecido, mas sabe-se que a agregação de integrinas ativa a autofosforilação da Fak no resíduo de Tyr-397^{114,115}.

Os complexos de adesão focal são ricos em uma variedade de moléculas sinalizadoras que incluem a Src, fatores trocadores de nucleotídeos (GEF), Ras e MAP quinases^{109,110}. Após a autofosforilação, resíduos adicionais de tirosina da Fak são fosforilados através da ação da Src que se liga à Fak no resíduo Tyr-397 via sítio de ligação SH2^{114,115}. A este fenômeno se segue a ligação de outras proteínas com sítios SH2 como a PI-3-quinase¹¹⁶ e o complexo Grb2/Sos¹¹⁷. Esta ligação de Grb2/Sos na Tyr-925 da Fak ativa a sinalização através da via de crescimento celular

Ras/Erk1/2¹¹⁷. Dessa forma, são ativados múltiplos componentes associados com a Fak que, por sua vez, têm papel fundamental nos vários efeitos celulares desencadeados pela ativação do complexo integrina/citoesqueleto¹⁰⁹.

Os cardiomiócitos possuem estruturas conhecidas como costâmeros que se assemelham aos complexos de adesão focal detectados em culturas de fibroblastos. Os costâmeros são também estruturas ricas em vinculina, talina, integrina acopladas a uma malha de actina¹¹⁸⁻¹²⁰. Essas estruturas encontram-se situadas na região de membrana próximas às linhas Z. Seu arranjo estrutural, sua localização e sua composição bioquímica sugerem que estas estruturas ancoram-se na matrix extracelular e são responsáveis pela ancoragem lateral da estrutura sarcomérica ao sarcolema. Esses sítios, como o complexo de adesão focal, podem ser responsáveis pela transdução de forças e iniciar a ativação de mecanismos intracelulares responsáveis pelo crescimento celular¹²¹, como indicado no esquema da figura 1.

Múltiplas isoformas de integrinas são expressas no coração e participam de processos biológicos como regulação do pH intracelular e crescimento hipertrófico^{119,122,123}. Estiramento pulsátil de cardiomiócitos de ratos neonatos ativam a Fak^{124,125}. Em estudos recentes¹²⁶, determinamos que o estímulo mecânico representado por sobrecarga pressora provocada pela colocação de um clamp ajustável na crossa da aorta produz ativação rápida e duradoura da Fak em miocárdio de ratos. Essa ativação se acompanha de ativação de vias de crescimento celular representadas pela ativação de ERK1/2 e vias de inibição da apoptose, representada pela ativação da AKT. Esses resultados indicam que a ativação da Fak é um elemento central no meca-

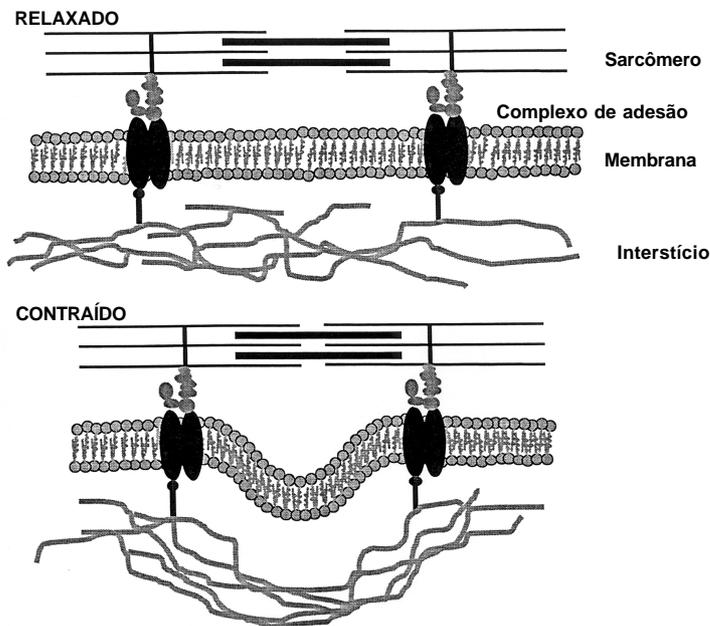


Figura 1 – Esquema representativo do acoplamento entre o citoesqueleto e a matriz extracelular em miócitos cardíacos através da integrina e seu comportamento durante o estiramento e a contração.

nismo de mecanotransdução em miocárdio, podendo ser um dos principais responsáveis pelo mecanismo de crescimento hipertrófico do miocárdio durante sobrecarga pressora.

Canais sensíveis ao estiramento: A ativação de canais iônicos sensíveis a estiramento poderia ser o mecanismo pelo qual estímulos mecânicos são traduzidos em sinais bioquímicos de crescimento celular em miócitos cardíacos. De fato, inúmeras evidências indicam a presença de canais iônicos sensíveis a estiramento no miocárdio. No entanto, o vínculo desses mecanismos com vias de sinalização celular envolvidas no crescimento celular necessita confirmação.

A mecanotransdução teria assim início na membrana com canais ativados por estiramento¹²⁷⁻¹³³. A distorção do canal iônico provocada pelo estímulo mecânico pode iniciar fenômenos elétricos localizados representados por despolarização ou hiperpolarização da membrana celular. Por outro lado, fenômenos elétricos

locais poderiam também ativar enzimas, dando início à mobilização de cascatas de eventos bioquímicos intracelulares.

Estudos com a técnica de “patch-clamp” detectaram vários tipos de canais iônicos sensíveis a estiramento por pressão negativa aplicada por sucção na secção de membrana aderida à micropipeta. Esses canais incluem canais catiônicos não-seletivos e canais seletivos de K^+ com diferentes condutâncias iônicas¹³⁴⁻¹³⁶. Por outro lado, a entrada localizada de Ca^{+2} através de canais não-seletivos pode despolarizar a membrana e induzir a ativação de mecanismos como a liberação de Ca^{+2} induzida por Ca^{+2} e ativação enzimática através de proteínas ligantes de Ca^{+2} como a calmodulina, por exemplo. Por outro lado, a abertura de canais catiônicos não-seletivos provoca uma corrente de entrada, despolarização e aumento na excitabilidade da membrana¹³⁷. Apesar de esses canais poderem atuar como elementos de mecanotransdução em miócitos cardíacos, o

bloqueio dos mesmos com Gd^{+3} não afeta o aumento de síntese protéica induzidos por estiramento em cardiomiócitos, sugerindo que canais sensíveis a estiramento que são inibidos pelo Gd^{+3} não estão envolvidos nas respostas hipertróficas induzidas por estiramento¹³⁵. No entanto, outros estudos sugerem que o estímulo mecânico pode afetar grande variedade de canais iônicos e correntes no coração, como canais K^+ -ATP¹³⁸, canal de K^+ retificador de corrente¹³⁹, canais de Cl^- ¹⁴⁰, canais de Ca^{+2} tipo L¹⁴¹ e corrente gerada pela bomba Na^+/K^+ ¹⁴². Não existem estudos conclusivos sobre a participação desses canais no efeito trófico provocado pelo estímulo mecânico no coração ou em miócitos cardíacos. Por outro lado, sugere-se que canais sensíveis a estiramento podem interagir com o citoesqueleto e, portanto, serem intrinsecamente sensíveis ao estiramento celular^{143,144}. Ainda, alguns canais podem ser ativados secundariamente por outros segundo mensageiros e provocar aumento na concentração intracelular de Ca^{+2} ¹³⁹.

Secreção de fatores parácrinos/autócrinos induzida por estiramento: A liberação de fatores autócrinos e parácrinos tem sido proposta como um dos importantes mecanismos na patogênese de hipertrofia cardíaca induzida por estímulo mecânico⁸⁸. Assim, o estiramento estimula a produção ou secreção de fatores de crescimento que podem mediar o crescimento celular induzido por estiramento, como discutido anteriormente. Há demonstrações de que cardiomiócitos submetidos a estiramento produzem angiotensina II que teria papel fundamental no crescimento de miócitos de ratos neonatos em cultura^{86,87,90}. Também há indicações de que a endotelina-1 liberada por estiramento de miócitos cardíacos⁸⁹ e FGF⁸⁵ pode ser a

mediadora do crescimento hipertrófico. Os mecanismos pelos quais o estiramento induz à liberação de fatores autócrinos e parácrinos são desconhecidos, mas algumas evidências experimentais apontam para efeito mecânico direto na membrana celular aumentando a permeabilidade aos peptídeos produzidos tanto por cardiomiócitos como por outras células miocárdicas.

Vias de sinalização celular

De maneira geral, os mecanismos de membrana, ativados por estímulos de natureza mecânica, hormonal ou parácrina/autócrina, ativam vias de crescimento celular que se constituem de uma ou mais enzimas com características de GTPase e/ou quinase ativadas em cadeias que ativam fatores de transcrição responsáveis, em última instância, pela regulação da expressão gênica (Figura 2). Outra característica importante das vias de sinalização intracelular é sua possibilidade de

amplificação do sinal, consequência de sua organização em cascata. A especificidade da relação estímulo-resposta nesse processo é basicamente determinada pelos mecanismos transmembrana e pela interação entre fatores de transcrição e promotores gênicos. Evidências da contribuição relativa de diferentes vias de sinalização e transcrição para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca são discutidas a seguir.

GTPases: As GTPases de baixo peso molecular (*small GTP-binding proteins*) são um elo crítico entre os receptores da superfície celular e as cascatas de quinase que regulam uma variedade de processos intracelulares inclusive e, principalmente, o crescimento celular. A enzima Ras é o protótipo dessa classe de enzimas e é reconhecidamente um regulador do crescimento celular¹⁴⁵. Outra enzima dessa família com evidências de participação no crescimento hipertrófico do miocárdio é a RhoA envolvida na regulação da morfologia celular e organização do citoes-

queleto^{146,147}. Essas enzimas são ativadas por fatores conhecidos com GEF (*GTP exchanging factors*) e GAPs (*G activating proteins*) que, por sua vez, foram demonstrados serem ativados por receptores de membrana, bem como por mecanismos associados às integrinas¹⁴⁵⁻¹⁴⁷.

A Ras ativada é suficiente para induzir hipertrofia em cardiomiócitos de ratos neonatos e em camundongos transgênicos^{148,149}. Por outro lado, em estudos em que cardiomiócitos de ratos neonatos foram transfectados com isoforma inativa da Ras ocorreu inibição da indução de ANF e o crescimento celular induzidos por fenilefrina¹⁵⁰.

A RhoA regula vias envolvidas na organização do citoesqueleto e sinergiza com a Ras nos processos de crescimento celular^{146,147}. O papel da RhoA na hipertrofia de miócitos foi recentemente demonstrado através dos efeitos das formas ativadas e dominante negativa desta enzima expressas em miócitos cardíacos¹⁵¹⁻¹⁵⁴. No entanto, a expressão de RhoA constitutivamente ativa em coração de camundongos não produziu hipertrofia¹⁵⁵. Ao invés disso, provocou dilatação atrial com diminuição da frequência cardíaca e disfunção átrio-nodal.

Quinases ativadas por mitógenos: As vias comandadas pelas quinases ativadas por mitógenos ("Mitogen Activated Protein Kinases – MAPK) constituem importante conexão entre os estímulos extracelulares que ativam uma grande variedade de mecanismos de sinalização celular e o núcleo¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. Atualmente, são conhecidos quatro grupos diferentes de MAPK (ERK1/2, p38, JNK1/2 e big MAPK). Estas quinases se organizam em cascatas de sinalização modulares consistindo cada módulo de uma MAP quinase quinase quinase (MAPKKK ou MEKK), uma MAP quinase

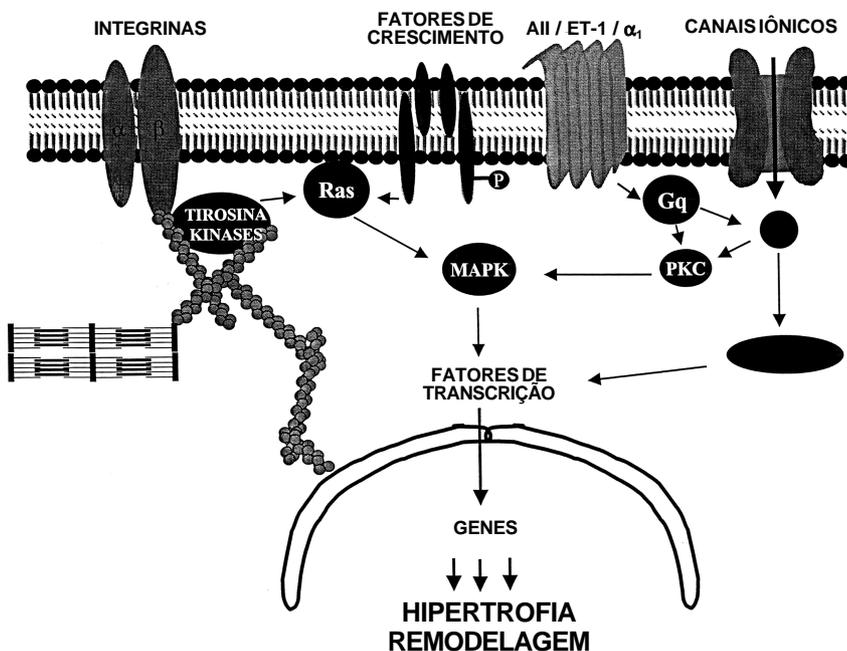


Figura 2 – Esquema representativo dos principais mecanismos de transdução mecano-bioquímicas e as vias de sinalização celular ativadas pelos mesmos em miócitos cardíacos.

quinase (MAPKK ou MEK) e uma MAP quinase (MAPK). A ativação da cascata inicia-se com a MAPKKK e é transmitida através do módulo via uma seqüência em cadeia de fosforilações em resíduos de serina e treonina. As MAPK, os membros mais distais da cascata, podem catalisar a fosforilação de fatores de transcrição e ativar a expressão gênica.

Apesar de as MAPK se organizarem e se comportarem de maneira semelhante, há indicações de que existe certa especialização em sua regulação. As ERKs são primariamente ativadas por estímulos anabólicos como agonistas de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) e estiramento¹⁵⁹⁻¹⁶¹. As JNKs e as p38-MAPKs são consideradas como MAPKs que respondem a estresse porque além de serem ativadas por estímulos anabólicos, como os agonistas GPCR e estiramento, são também ativadas por agentes citotóxicos¹⁶². O papel dessas diferentes vias na modulação da resposta dos cardiomiócitos aos estímulos hipertróficos é conflitante. Não está esclarecido ainda se a ativação das MAPK é necessária ou suficiente para a resposta hipertrófica. Resultados de vários estudos com inibidores farmacológicos ou construções de mRNA anti-sense da ERK ou inibição de seu ativador a MEK1/2 indicam que ocorre redução da resposta hipertrófica induzida por GPCR em cultura de cardiomiócitos^{163,164}. No entanto, a JNK, mas não a ERK, é ativada nos ventrículos de ratos transgênicos com Ras constitutivamente ativa¹⁶⁵.

A expressão mediada por adenovírus da forma constitutivamente ativa de MKK7 em cardiomiócitos ativa especificamente a JNK e é suficiente para induzir todas as características fenotípicas de hipertrofia¹⁶⁶. A expressão da forma ativada de MKK6, uma MKK

específica para a p38 em cardiomiócitos, é suficiente para induzir todas as características de hipertrofia, enquanto a forma ativada de MKK3 outra ativadora de p38, pode induzir tanto hipertrofia como apoptose, dependendo de qual isoforma de p38 é co-expressa nos cardiomiócitos¹⁶⁷. A forma dominante negativa de MKK4, uma MKK que ativa a JNK, é capaz de bloquear a hipertrofia induzida por ET-1 em miócitos de neonatos e a hipertrofia induzida por sobrecarga pressora em corações de ratos adultos quando expressa por adenovírus¹⁶⁸⁻¹⁷⁰.

Gq/G11. A ligação de agonistas como a angiotensina II a seus receptores de membrana tipo hepta-hélice causa a dissociação de proteínas G heterotriméricas e ativação subsequente de vias de sinalização celular⁵⁶. As subunidades Gq/G11 dissociadas desse tipo de receptor de membrana estimulam a atividade da fosfolipase C resultando em hidrólise de fosfolípidos de membrana e produção de fosfoinosítídeos e diacilglicerol que, por sua vez, liga-se à PKC para estimular a via Ras/MAPK. O fosfoinosítídeo IP3 causa a liberação de Ca⁺² dos estoques internos levando à ativação de várias vias de sinalização dependentes desse íon. O papel dos receptores ligados a Gq na hipertrofia foi inicialmente sugerido pela capacidade de ligantes como a fenilefrina, AII e endotelina (ET-1) ativar a resposta hipertrófica em cultura de cardiomiócitos^{56,169,170}. Dois modelos transgênicos demonstram a suficiência de sinais mediados por Gq em induzir hipertrofia *in vivo*. Hiperexpressão moderada de Gq em corações leva à hipertrofia com atenuação da função sistólica enquanto níveis mais elevados de expressão levam à dilatação ventricular e desenvolvimento de insuficiência cardíaca⁶⁷. A expressão de forma constitu-

tivamente ativa de Gq produziu resultados similares¹⁷¹. Além disso, demonstrou-se através de hiperexpressão de inibidor peptídico de Gq em camundongos transgênicos que as proteínas Gq também participam das respostas hipertróficas à sobrecarga pressora¹⁷².

Proteína quinase C. A proteína quinase C (PKC) é uma serina/treonina quinase ubíqua que é ativada em resposta a agonistas que se ligam aos receptores acoplados a Gq/G11¹⁶⁰. Várias são as linhas de evidência que relacionam a PKC ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca. Esters de forbol que ativam a PKC mimetizam as ações hipertróficas de Gq e G11 em cultura de cardiomiócitos^{173,174}.

Quinases dependentes de Ca⁺²/calmodulina. A enzima multifuncional quinase dependente de Ca⁺²/calmodulina (CaMK) é reconhecida como um efetor das ações do Ca⁺² no músculo cardíaco. Esta enzima é uma serina/treonina quinase que fosforila proteínas miocárdicas envolvidas no transporte de Ca⁺² incluindo canais tipo rianodina, ATPase Ca⁺²-dependente (SERCA) e fosfolamban e também modula os canais de Ca⁺² tipo L e o acoplamento excitação-contração nos miócitos cardíacos¹⁷⁵. As isoformas II e IV são encontradas nos miócitos cardíacos¹⁷⁶⁻¹⁷⁹. A CaMKII localiza-se predominantemente no citoplasma dos miócitos cardíacos, mas também é encontrada no núcleo¹⁸⁰. A presença de isoforma nuclear da CaMKII no músculo cardíaco sugere que esta enzima pode regular a expressão gênica no coração. Demonstrou-se que CaMKII induz à expressão de gen-repórter associado ao promotor do ANF enquanto a CaMK localizada no citoplasma não ativa esta construção¹⁸⁰. Em estudo recente¹⁸¹, demonstrou-se que camundongos

transgênicos com hiperexpressão de CaMKII apresentam hipertrofia cardíaca sem déficit de função sistólica.

Conclusão

Estímulos de origens diversas podem estar envolvidos no estabelecimento de hipertrofia cardíaca por sobrecarga pressora, no entanto, as

evidências disponíveis indicam uma participação fundamental do estímulo mecânico. Da mesma forma, diversas vias de sinalização celular são necessárias e algumas suficientes para a indução dos diferentes aspectos da resposta hipertrófica do miocárdio e cardiomiócito à sobrecarga hemodinâmica crônica. O desenvolvimento de número crescente de animais transgênicos e *knock-out* que reproduzem a hipertrofia cardíaca tem permitido o

esclarecimento sobre a contribuição de mecanismos específicos que determinam o crescimento hipertrófico e a falência miocárdica. A perspectiva é de que esse conhecimento apurado dos mecanismos de adaptação e desadaptação miocárdica permita o estabelecimento de condutas preventivas e terapêuticas em indivíduos com afecções cardíacas que se acompanham de hipertrofia e insuficiência cardíaca.

Abstract

Cardiac hypertrophy: molecular mechanisms

Cardiac hypertrophy is, in most cases, an adaptive response of the myocardium to chronic hemodynamic overload. Characteristically, the phenotypic changes in the hypertrophic myocardium are due to an increase in the dimensions of cardiac myocytes, although it might be accompanied by a variable degree of proliferation of interstitial tissue. The hypertrophic growth of cardiac myocytes is essentially due to an increased expression of contractile and other structural proteins, but qualitative changes in the expression of genes such as fetal isoforms of contractile proteins, atrial natriuretic factor and angiotensin converting enzyme genes, also occur and contribute to the phenotypic characteristic of hypertrophic cardiac myocytes. A number of different type of stimuli may be involved in the regulation of hypertrophic growth in

cardiac myocytes (e.g. neurotransmitters, cytokines, etc), however the straight relationship between the hemodynamic overload and the hypertrophic growth indicates that mechanical stimuli such as tension and elongation may play a central role in this process. Cellular signaling mechanisms linked to sarcolemmal ionic channels and the cytoskeletal meshwork have been proposed to function as mechanotransducers in cardiac myocytes. Multiple intracellular signaling pathways regulated by small GTPases, MAPKinases and transcription factors are activated by hypertrophic stimuli and are presumably involved in the development of adaptive cardiac hypertrophy. Therefore, cardiac hypertrophy is a complex myocardial adaptive phenomena which depends on the mobilization of multiple signaling mechanisms involved in the cellular growth. This article review some of the molecular mechanisms involved in the myocardial hypertrophic growth, with emphasis on the mechanisms involved on mechano-transduction and their downstream-activated pathways.

Keywords: Cardiac hypertrophy; Cellular growth; Hypertension; Heart failure.

Rev Bras Hipertens 8: 125-42, 2001

Referências

1. Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: A review. *J Am Coll Cardiol* 7: 1140-9, 1986.
2. Cooper G. Cardiocyte adaptation to chronically altered load. *Ann Rev Physiol* 49: 501-18, 1987.
3. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 322: 1561-6, 1990.
4. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy. Pathogenesis, detection and prognosis. *Circulation* 102: 470-9, 2000.
5. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 56: 56-64, 1975.
6. Anversa P, Melissari M, Beghi C, Olivetti G. Structural compensatory mechanism in rat heart in early spontaneous hypertension. *Am J Physiol* 246: H739-H746, 1984.
7. Bove KE, Rowland DT, Scott RC. Observations on the assessment of cardiac hypertrophy using a chamber partition technique. *Circulation* 33: 558-68, 1966.
8. Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation* 55: 613-8, 1977.
9. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 57: 450-8, 1986.
10. Byrd BF III, Finkbeiner W, Bouchard A, Silverman MH, Schiller NB. Accuracy and reproducibility of clinically acquired two dimensional echocardiographic mass measurements. *Am Heart J* 118: 133-7, 1989.
11. Lorenz CH, Walker ES, Morgan VL. Normal human right and left ventricular mass, systolic function, and gender differences by cine magnetic resonance imaging. *J Cardio Magn Res* 1: 7-21, 1999.
12. Anversa P, Loud AV, Vitali-Mazza L. Morphometry and autoradiography of early hypertrophic changes in the ventricular myocardium of adult rat. An electron microscopic study. *Lab Invest* 35: 475-83, 1976.
13. Vliegen HW, Eulderink F, Bruschke AV, Van der Laarse A, Cornelisse CJ. Polyploidy of myocyte nuclei in pressure-overloaded human hearts: a flow cytometric study in left and right ventricular myocardium. *Am J Cardiovasc Pathol* 5: 2731-42, 1995.
14. Rabinowitz M, Zak R. Mitochondria and cardiac hypertrophy. *Circ Res* 36: 367-76, 1975.
15. Bing OHL, Matshushita S, Fanburg BL, Levine HJ. Mechanical properties of rat cardiac muscle during experimental hypertrophy. *Circ Res* 28: 234-45, 1973.
16. Jouannot P, Hatt PY. Rat myocardial mechanics during pressure-induced hypertrophy development and reversal. *Am J Physiol* 229: 355-64, 1975.
17. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 79: 215-62, 1999.
18. Lompré AM, Schwartz K, D'albis A, Lacombe G, Thiem NV, Swynghedauw B. Myosin isozymes redistribution in chronic heart overloading. *Nature* 282:105-7, 1979.
19. Feldman A, Weinberg EO, Ray PE, Lorell BH. Selective changes in cardiac gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding. *Circ Res* 73: 184-92, 1993.
20. Mercadier JJ, Lompré AM, Wisnewsky C, Samuel JL, Bercovici J, Swynghedauw B, Schwartz K. Myosin isoenzymic changes in several models of rat cardiac hypertrophy. *Circ Res* 49: 525-32, 1981.
21. Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscle. *Physiol Rev* 66: 710-71, 1986.
22. Bugaisky LB, Gupta M, Gupta MO, Zak R. Cellular and molecular mechanisms of cardiac hypertrophy. In: *The heart and cardiovascular system*, 2. ed. HA Fozzard et al. (eds.). New York, Raven Press, 1621-40, 1992.
23. Hunter JJ, Grace A, Chien KR. Molecular and cellular biology of cardiac hypertrophy and failure. In: *Molecular basis of cardiovascular disease*. Kenneth R Chien (ed.). Philadelphia, WB Saunders Company, 211-50, 1999.
24. Simpson P. Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an $\alpha 1$ -adrenergic receptor and induction of beating through $\alpha 1$ and $\beta 1$ -adrenergic receptor interaction. *Circ Res* 56: 884-94, 1985.
25. Simpson P, McGrath A, Savion S. Myocyte hypertrophy in neonatal rat heart cultures and its regulation by serum and by catecholamines. *Circ Res* 51: 787-801, 1982.
26. Cooper G, Mercer WE, Hooper JK, Gordon PR, Kent RL, Lauva IK, Marino TA. Load regulation of the properties of adult feline cardiocytes: the role of substrate adhesion. *Circ Res* 58: 692-705, 1986.
27. Peterson MB, Lesch M. Protein synthesis and amino acid transport in the isolated rabbit right ventricular papillary muscle. Effect of isometric tension development. *Circ Res* 31: 317-27, 1972.
28. Fink C, Ergün S, Kralisch D, Remmers U, Weil J, Eschenhagen T. Chronic stretch of engineered heart tissue induces hypertrophy and functional improvement. *Faseb J* 14: 669-79, 2000.
29. Simpson PC, Long CS, Waspe LE, Henrich CJ, Ordahl CP. Transcription of early developmental isogenes in cardiac myocyte hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 21 (Suppl V): 79-89, 1989.
30. Cooper G. Basic determinants of myocardial hypertrophy: a review of molecular mechanisms. *Annu Rev Med* 48: 13-23, 1997.
31. Florenzano F, Glantz AS. Left ventricular mechanical adaptation to chronic aortic regurgitation in intact dogs. *Am J Physiol* 252: H969-H984, 1987.
32. Nguyen TNP, Chagas ACP, Glantz AS. Left ventricular adaptation to gradual

- renovascular hypertension in dogs. *Am J Physiol* 265: H22-H38, 1993.
33. Omens JH. Stress and strain as regulators of myocardial growth. *Prog Bioph and Molec Biol* 69: 559-72, 1998.
 34. Cooper G, Kent RL, Uboh CE, Thompson EW, Marino TA. Hemodynamic versus adrenergic control of cat right ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 75: 1403-14, 1985.
 35. Morgan HE, Baker KM. Cardiac hypertrophy. Mechanical, neural, and endocrine dependence. *Circulation* 83: 13-25, 1991.
 36. Spann JF, Bove AA, Natarajan G, Kreulens T. Ventricular performance, pump function and compensatory mechanisms in patients with aortic stenosis. *Circulation* 62: 576-83, 1980.
 37. Mann DL, Kent RL, Cooper G IV. Load regulation of the properties of adult feline cardiocytes: growth induction by cellular deformation. *Circ Res* 64: 1079-90, 1989.
 38. Xenophontos XP, Gordon EE, Morgan HE. Effect of intraventricular pressure on protein synthesis in arrested rat hearts. *Am J Physiol* 251: C95-C98, 1986.
 39. Von Harsdorf R, Lang RE, Fullerton M, Woodcock EA. Myocardial stretch stimulates phosphatidylinositol turnover. *Circ Res* 65:494-501, 1989.
 40. Peterson MB, Lesch M. Protein synthesis and amino acid transport in the isolated rabbit right ventricular papillary muscle. Effect of isometric tension development. *Circ Res* 31: 317-27, 1972.
 41. Komuro I, Kaida T, Shibazaki Y, Kurabayashi M, Katoh Y, Hoh E, Takaku F, Yazaki Y. Stretching cardiac myocytes stimulates protooncogene expression. *J Biol Chem* 265: 3595-8, 1990.
 42. Izumo S, Sadoshima J. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 59: 551-71, 1997.
 43. Komuro I, Kudo S, Yamazaki T, Zou Y, Shiojima I, Yazaki Y. Mechanical stretch activates the stress-activated protein kinases in cardiac myocytes. *Faseb J* 10: 631-6, 1996.
 44. Yamazaki T, Komuro I, Kudoh S, Zou Y, Nagai R, Aikawa R, Uozumi H, Yazaki Y. Role of ion channels and exchangers in mechanical stretch-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Circ Res* 82, 430-7, 1998.
 45. Pennica D, King KL, Shaw KJ, Chien KR. Expression and cloning of cardiotrophin-1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci* 92: 1142-6, 1995.
 46. Kent RL, Uboh CE, Thompson EW, Gordon SS, Marino TA, Hooper JK, Cooper G. Biochemical and structural correlates in unloaded and reloaded cat myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 17: 153-65, 1985.
 47. Alderman EL, Harrison DC. Myocardial hypertrophy resulting from low dose of isoproterenol administration in rats. *Proc. Soc. Exp Biol Med* 136: 268-70, 1970.
 48. Laks MM, Morady F, Swan HJC. Myocardial hypertrophy produced by chronic infusion of subhypertensive doses of norepinephrine in the dog. *Chest* 64: 75-8, 1973.
 49. King BD, Sack D, Kichuk MR, Hintze TH. Absence of hypertension despite chronic marked elevations in plasma norepinephrine in conscious dogs. *Hypertension* 9: 682-90, 1987.
 50. Patel MB, Stewart JM, Loud AV, Anversa P, Wang J, Fiegel L, Hintze TH. Altered function and structure of the heart in dogs with chronic elevation in plasma norepinephrine. *Circulation* 84: 2091-100, 1991.
 51. Ostman-Smith I. Cardiac sympathetic nerves as the final common pathway in the initiation of adaptive cardiac hypertrophy. *Clin Sci* 61: 265-72, 1981.
 52. Lindpainter K, Sem S. Role of sodium in hypertensive cardiac hypertrophy. *Circ Res* 57: 610-7, 1985.
 53. Corea L, Bentivoglio M, Verdecchia P. Echocardiographic left ventricular hypertrophy as related to arterial pressure and plasma norepinephrine concentration in arterial hypertension: reversal by atenolol treatment. *Hypertension* 5: 837-43, 1983.
 54. Sem S, Tarazi RC, Khairallah PA, Bumpus FM. Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 35: 775-81, 1974.
 55. Fernandes M, Onesti G, Fiorentini T, Kim KE, Swartz C. Effect of chronic administration on the blood pressure and heart weight in experimental renal hypertension. *Life Sci* 18: 967-70, 1976.
 56. Simpson P, McGrath A. Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha1 adrenergic response. *J Clin Invest* 72: 732- 8, 1983.
 57. Knowlton KU, Michel MC, Itani M, Shubeita HE, Ishihara K, Brown JH, Chien KR. The alpha1-adrenergic receptor subtype mediates biochemical, molecular, and morphologic features of cultured myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 15374-80, 1993.
 58. Fuller SJ, Gaitanaki CJ, Sugden PH. Effects of catecholamines on protein synthesis in cardiac myocytes and perfused hearts isolated from adult rats. *Biochem J* 266: 727-36, 1990.
 59. Ikeda U, Tsuruya Y, Yaginuma T. alpha-1-Adrenergic stimulation is coupled to cardiac myocyte hypertrophy. *Am J Physiol* 260: H953-H956, 1991.
 60. Schlüter KD, Piper HM. Trophic effects of catecholamines and parathyroid hormone on adult ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol* 263: H1739-H1746, 1992.
 61. Decker RS, Cook MG, Behnke-Barclay MM, Decker ML, Lesch M, Samarel AM. Catecholamines modulate protein turnover in cultured, quiescent rabbit cardiac myocytes. *Am J Physiol* 265: H329-H339, 1993.
 62. Pinson A, Schlüter KD, Zhou XJ, Schwartz P, Kessler-Icekson G, Piper HM. Alpha- and beta-adrenergic stimulation of protein synthesis in cultured adult ventricular cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 25: 477-90, 1993.
 63. Milano CA, Dolber PC, Rockman HA, Bond RA, Venable ME, Allen LF, Lefkowitz RJ. Myocardial expression of a constitutively active alpha1B-adrenergic receptor in transgenic mice induces cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci* 91: 10109-13, 1994.
 64. Akhter SA, Milano CA, Shotwell KF, Cho MC, Rockman HA, Lefkowitz RJ,

- Koch WJ. Transgenic mice with cardiac overexpression of $\alpha 1B$ -adrenergic receptors. *J Biol Chem* 272: 21253-9, 1997.
65. D'Angelo DD, Sakata Y, Lorenz JN, Boivin GP, Walsh RA, Liggett SB, Dorn GW II. Transgenic Gaq overexpression induces cardiac contractile failure in mice. *Proc Natl Acad Sci* 94: 8121-6, 1997.
66. Shub C, Cueto-Gracia L, Sheps SG, Ilstrup DM, Tajik AJ. Echocardiographic findings in pheochromocytoma. *Am J Cardiol* 57: 971-5, 1986.
67. Fouad-Tarazi FM, Imamura M, Bravo EL, Rossi G, Nagi HK, Lin WW, Cressman M, Wicker P. Differences in left ventricular structural and functional changes between pheochromocytoma and essential hypertension. *Am J Hypertension* 5: 134-40, 1992.
68. Pfeffer JM, Fischer TA, Pfeffer MA. Angiotensin-converting enzyme inhibition and ventricular remodeling after myocardial infarction. *Annu Rev Physiol* 57: 805-26, 1995.
69. Suzuki J, Matsubara H, Urakami M, Inada M. Rat angiotensin II (type 1A) receptor mRNA regulation and subtype expression in myocardial growth and hypertrophy. *Circ Res* 73: 439-47, 1993.
70. Bruckschlegel G, Holmer SR, Jandeleit K, Grimm D, Muders F, Kromer EP, Riegger GA, Schunkert H. Blockade of the renin-angiotensin system in cardiac pressure-overload hypertrophy in rats. *Hypertension* 25: 250-9, 1995.
71. Baker KM, Chernin MI, Wixson SK, Aceto JF. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol* 259: H324-332, 1990.
72. Kojima M, Shiojima I, Yamazaki T, Komuro I, Zou Z, Wang Y, Mizuno T, Ueki K, Tobe K, Kadowaki T. Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 induces regression of hypertensive left ventricular hypertrophy in vivo and inhibits the intracellular signaling pathway of stretch-mediated cardiomyocyte hypertrophy in vitro. *Circulation* 89: 2204-11, 1994.
73. Schunkert H, Dzau VJ, Tang SS, Hirsch AT, Apstein CS, Lorell BH. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy: effect on coronary resistance, contractility, and relaxation. *J Clin Invest* 86: 1913-20, 1990.
74. Baker KM, Booz GW, Dostal DE. Cardiac actions of angiotensin II: role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol* 54: 227-41, 1992.
75. Shiojima I, Komuro I, Yamazaki T, Nagai R, Yazaki Y. Molecular aspects of the control of myocardial relaxation. In: Lorell BH, Grossman W (eds.). *Diastolic Relaxation of the Heart*. Boston, Kluwer Academic Publishers, 25-32, 1994.
76. Zhang X, Dostal DE, Reiss K, Cheng W, Kajstura J, Li P, Huang H, Sonnenblick EH, Meggs LG, Baker KM. Identification and activation of autocrine renin-angiotensin system in adult ventricular myocytes. *Am J Physiol* 269: H1791-802, 1995.
77. Shyu KG, Chen JJ, Shih NL, Chang H, Wang DL, Lien WP, Liew CC. Angiotensinogen gene expression is induced by cyclical mechanical stretch in cultured rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 211: 241-8, 1995.
78. Malhotra R, Sadoshima J, Izumo S. Mechanical stretch upregulates expression of the local renin-angiotensin system genes in cardiac myocytes in vitro. *Circulation* 90: I-195 (Abstract), 1994.
79. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: a critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 73: 413-23, 1993.
80. Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* 75: 977-84, 1993.
81. Yamazaki T, Komuro I, Kudoh S, Zou Y, Shiojima I, Mizuno T, Takano H, Hiroi Y, Ueki K, Tobe K. Angiotensin II partly mediates mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 77: 258-65, 1995.
82. Harada K, Komuro I, Shiojima I, Hayashi D, Kudoh S, Mizuno T, Kijima K, Matsubara H, Sugaya T, Murakami K, Yazaki Y. Pressure overload induces cardiac hypertrophy in angiotensin II type 1A receptor knockout mice. *Circulation* 97: 1952-9, 1998.
83. Parker TG, Packer SE, Schneider MD. Peptide growth factors can provoke "fetal" contractile protein gene expression in rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 85: 507-14, 1990.
84. Bogoyevitch MA, Glennon PE, Andersson MB, Clerk A, Lazou A, Marshall CJ, Parker PJ, Sugden PH. Endothelin-1 and fibroblast growth factors stimulate the mitogen-activated protein kinase signaling cascade in cardiac myocytes. The potential role of the cascade in the integration of two signaling pathways leading to myocyte hypertrophy. *J Biol Chem* 269: 1110-9, 1994.
85. Harder BA, Schaub MC, Eppenberger HM, Eppenberger-Eberhardt M. Influence of fibroblast growth factor (bFGF) and insulin-like growth factor (IGF-I) on cytoskeletal and contractile structures and on atrial natriuretic factor (ANF) expression in adult rat ventricular cardiomyocytes in culture. *J Mol Cell Cardiol* 28: 19-31, 1996.
86. Kaye D, Pimental D, Prasad S, Maki T, Berger HJ, McNeil PL, Smith TW, Kelly RA. Role of transiently altered sarcolemmal membrane permeability and basic fibroblast growth factor release in the hypertrophic response of adult rat ventricular myocytes to increased mechanical activity in vitro. *J Clin Invest* 97: 281-91, 1996.
87. Hefti MA, Harder BA, Eppenberger HM, Schaub MC. Signaling pathways in cardiac myocyte hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 29: 2873-92, 1997.
88. Tomita Y, Kusama Y, Seino Y, Munakata K, Kishida H, Hayakawa H. Increased accumulation of acidic fibroblast growth factor in left ventricular myocytes of patients with idiopathic cardiomyopathy. *Am Heart J* 134: 779-86, 1997.
89. Scheinowitz M, Kotlyar A, Zimand S, Ohad D, Leibovitz I, Bloom N, Goldberg I, Nass D, Engelberg S, Savion N, Eldar M. Basic fibroblast growth factor

- induces myocardial hypertrophy following acute infarction in rats. *Exp Physiol* 3: 585-93, 1998.
90. Corda S, Mebazaa A, Gandolfini MP, Fitting C, Marotte F, Peynet J, Charlemagne D, Cavaillon JM, Payen D, Rappaport L, Samuel JL. Trophic effect of human pericardial fluid on adult cardiac myocytes. Differential role of fibroblast growth factor-2 and factors related to ventricular hypertrophy. *Circ Res* 81: 679-87, 1997.
 91. Scheinowitz M, Abramov D, Kotlyar A, Savion N, Eldar M. Continuous administration of insulin-like growth factor-I and basic fibroblast growth factor does not affect left ventricular geometry after acute myocardial infarction in rats. *Int J Cardiol* 63: 217-21, 1998.
 92. Nicol RL, Frey N, Olson EN. From the sarcomere to the nucleus: role of genetics and signaling in structural heart disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 1: 179-223, 2000.
 93. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, Lamas R, McKenna W, Vosberg HP, Seidman JG, Seidman CE. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 77: 701-12, 1994.
 94. Post WS, Larson MG, Myers RH, Galderisi M, Levy D. Heritability of left ventricular mass: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 30: 1025-8, 1997.
 95. Verhaaren HA, Schieken RM, Mosteller M, Hewitt JK, Eaves LJ, Nance WE. Bivariate genetic analysis of left ventricular mass and weight in pubertal twins (the Medical College of Virginia twin study). *Am J Cardiol* 68: 661-8, 1991.
 96. Ravogli A, Trazzi S, Villani A, Mutti E, Cuspidi C, Sampieri L, De Ambroggi L, Parati G, Zanchetti A, Mancia G. Early 24-hour blood pressure elevation in normotensive subjects with parental hypertension. *Hypertension* 16: 491-7, 1990.
 97. Dunn FG, Oigman W, Sungaard-Riise K, Messerli FH, Ventura H, Reisin E, Frohlich ED. Racial differences in cardiac adaptation to essential hypertension determined by echocardiographic indexes. *J Am Coll Cardiol* 1: 1348-51, 1983.
 98. Koide M, Ngatsu M, Zile MR, Hamawaki M, Swindle MM, Keech G, DeFreyte G, Tagawa H, Cooper G IV, Carabello BA. Premorbid determinants of left ventricular dysfunction in a novel model of gradually induced pressure overload in the adult canine. *Circulation* 95: 1601-10, 1997.
 99. Clark, JS, Jeffs B, Davidson AO, Lee WK, Anderson NH, Bihoreau MT, Brosnan MJ, Devlin AM, Kelman AW, Lindpaintner K, Dominiczak AF. Quantitative trait loci in genetically hypertensive rats. Possible sex specificity. *Hypertension* 28: 898-906, 1996.
 100. Hamet P, Kaiser MA, Sun Y, Page V, Vincent M, Kren V, Pravenec M, Kunes J, Tremblay J, Samani NJ. HSP27 locus cosegregates with left ventricular mass independently of blood pressure. *Hypertension* 28: 1112-7, 1996.
 101. Harris EL, Phelan EL, Thompson CM, Millar JA, Grigor MR. Heart mass and blood pressure have separate genetic determinants in the New Zealand genetically hypertensive (GH) rat. *J Hypertens* 13: 397-404, 1995.
 102. Innes BA, McLaughlin MG, Kapuscinski MK, Jacob HJ, Harrap SB. Independent genetic susceptibility to cardiac hypertrophy in inherited hypertension. *Hypertension* 31: 741-6, 1998.
 103. Pravenec M, Gauguier D, Schott JJ, Buard J, Kren V, Bila V, Szpirer C, Szpirer J, Wang JM, Huang H, Lezin ES, Spence MA, Flodman P, Printz M, Lathrop GM, Vergnaud G, Kurtz TW. Mapping of quantitative trait loci for blood pressure and cardiac mass in the rat by genome scanning of recombinant inbred strains. *J Clin Invest* 96: 1973-8, 1995.
 104. Sebkhii A, Zhao L, Lu L, Haley CS, Nunez DJ, Wilkins MR. Genetic determination of cardiac mass in normotensive rats: results from an F344xWKY cross. *Hypertension* 33: 949-53, 1999.
 105. Chicurel ME, Chen CS, Ingber DE. Cellular control lies in the balance of forces. *Curr Opin Cell Biol* 10: 232-9, 1998.
 106. Maniotis AJ, Chen CS, Ingber DE. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc Natl Acad Sci* 94: 849-54, 1997.
 107. Janmey PA. The cytoskeleton and cell signaling: component localization and mechanical coupling. *Physiol Rev* 78: 763-81, 1998.
 108. BurrIDGE K, Chrzanowska-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signaling. *Annu Rev Cell Dev Biol* 12: 463-519, 1996.
 109. Kornberg L, Earp HS, Parsons JT, Schaller M, Juliano RL. Cell adhesion or integrin clustering increases phosphorylation of a focal adhesion-associated tyrosine kinase. *J Biol Chem* 267: 23439-42, 1992.
 110. BurrIDGE K, Turner CE, Romer LH. Tyrosine phosphorylation of paxillin and pp125 FAK accompanies cell adhesion to extracellular matrix: a role in cytoskeletal assembly. *J Cell Biol* 119: 893-903, 1992.
 111. Schaller MD, Hildebrand JD, Shannon JD, Fox JW, Vines RR, Parsons JT. Autophosphorylation of the focal adhesion kinase, pp125FAK, directs SH2-dependent binding of pp60src. *Mol Cell Biol* 14: 1680-8, 1994.
 112. Bachelot C, Rameh L, Parsons T, Cantley LC. Association of phosphatidylinositol 3-kinase, via SH2 domains of p85, with focal adhesion kinase in polyoma middle t-transformed fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 1311: 45-52, 1996.
 113. Schlaepfer DD, Hanks S, Hunter T, van der Geer P. Integrin-mediated signal transduction linked to Ras pathway by GRB2 binding to focal adhesion kinase. *Nature* 372: 786-91, 1994.
 114. Sadoshima J, Izumo S. Roles of integrins in cell swelling-induced tyrosine phosphorylation in cardiac myocytes. *Circulation* 90 (Suppl I): I-305 (Abstract), 1994.
 115. Seko Y, Takahashi N, Tobe K, Kadowaki T, Yazaki Y. Pulsatile stretch activates mitogen-activated protein kinase (MAPK) family members and focal adhesion kinase (p125(FAK)) in cultured rat cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 259: 8-14, 1999.

116. Kuppaswamy D, Kerr C, Narishige T, Kasi VS, Menick DR, Cooper G. Association of tyrosine-phosphorylated c-Src with the cytoskeleton of hypertrophying myocardium. *J Biol Chem* 272: 4500-8, 1997.
117. Schlaepfer DD, Hunter T. Focal adhesion kinase overexpression enhances Ras-dependent integrin signaling to Erk2/mitogen-activated protein kinase through interactions with and activation of c-Src. *J Biol Chem* 272: 13189-95, 1997.
118. Chan TO, Rittenhouse SE, Tschlis PN. Akt/PKB and other D3 phosphoinositides-regulated kinases: kinase activation by phosphoinositide-dependent phosphorylation. *Annu Rev Biochem* 68: 965-1014, 1999.
119. Pardo JV, Siciliano JD, Craig SW. Vinculin is a component of an extensive network of myofibril-sarcolemma attachment regions in cardiac muscle fibers. *J Cell Biol* 97: 1081-8, 1983.
120. Danowski BA, Imanaka-Yoshida K, Sanger JM, Sanger JW. Costameres are sites of force transmission to the substratum in adult rat cardiomyocytes. *J Cell Biol* 118: 1411-20, 1992.
121. Sonoda Y, Watanabe S, Matsumoto Y, Aizu-Yokota E, Kasahara T. FAK is the upstream signal protein of the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt survival pathway in hydrogen peroxide-induced apoptosis of a human glioblastoma cell line. *J Biol Chem* 274: 36544-9, 1999.
122. Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade. *Faseb J* 9: 726-35, 1995.
123. Sadoshima J, Izumo S. Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. *Embo J* 12: 1681-92, 1993.
124. Yamazaki T, Tobe K, Hoh E, Maemura K, Kaida T, Komuro I, Tamemoto H, Kadowaki T, Nagai R, Yazaki Y. Mechanical loading activates mitogen-activated protein kinase and S6 peptide kinase in cultured rat cardiac myocytes. *J Biol Chem* 268: 12069-76, 1993.
125. Thorburn J, Frost JA, Thorburn A. Mitogen-activated protein kinases mediate changes in gene expression, but not cytoskeletal organization associated with cardiac muscle cell hypertrophy. *J Cell Biol* 126: 1565-72, 1994.
126. Franchini KG, Torsoni AS, Soares PHA, Saad MJA. Early activation of the multicomponent signaling complex associated with focal adhesion kinase induced by pressure overload in the rat heart. *Circ Res* 87: 558-65, 2000.
127. Morris C.E. Mechanosensitive ion channels. *J Membr Biol* 113: 93-107, 1990.
128. Sachs F. Mechanical transduction by membrane ion channels: a mini review. *Mol Cell Biochem* 104: 57-60, 1991.
129. French AS. Mechanotransduction. *Ann Rev Physiol* 54: 135-52, 1992.
130. Sackin H. Mechanosensitive channels. *Annu Rev Physiol* 57: 333-53, 1995.
131. Hu H, Sachs F. Stretch-activated ion channels in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 29: 1511-23, 1997.
132. Bett G, Sachs F. Cardiac mechanosensitivity and stretch-activated ion channels. *Trends Cardiovasc Med* 7: 4-8, 1997.
133. Cazorla O, Pascarel C, Brette F, Le Guennec JY. Modulation of ion channels and membrane receptor activity by stretch in cardiomyocytes. Possible mechanisms for mechanosensitivity. *Progr Bioph Molec Biol* 71: 29-57, 1999.
134. Ruknudin A, Sachs F, Bustamante JO. Stretch-activated ion channels in tissue-cultured chick heart. *Am J Physiol* 264: H960-972, 1993.
135. Sadoshima J, Takahashi T, Jahn L, Izumo S. Roles of mechanosensitive ion channels, cytoskeleton, and contractile activity in stretch-induced immediate-early gene expression and hypertrophy of cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci* 89: 9905-9, 1992.
136. Sigurdson W, Ruknudin A, Sachs F. Calcium imaging of mechanically induced fluxes in tissue-cultured chick heart: role of stretch-activated ion channels. *Am J Physiol* 262: H1110-1115, 1992.
137. Tung L, Zou S. Influence of stretch on excitation threshold of single frog ventricular cells. *Exp Physiol* 80: 221-35, 1995.
138. van Wagoner DR. Mechanosensitive gating of atrial ATP-sensitive potassium channels. *Circ Res* 72: 973-83, 1993.
139. Sasaki N, Mitsuiye T, Noma A. Effects of mechanical stretch on membrane currents of single ventricular myocytes of guinea-pig heart. *Jpn J Physiol* 42: 957-70, 1992.
140. Hagiwara N, Masuda H, Shoda M, Irisawa H. Stretch-activated anion currents of rabbit cardiac myocytes. *J Physiol* 456: 285-302, 1992.
141. Matsuda N, Hagiwara N, Shoda M, Kasanuki H, Hosoda S. Enhancement of the L-type Ca^{+2} current by mechanical stimulation in single rabbit cardiac myocytes. *Circ Res* 78: 650-9, 1996.
142. Sasaki N, Mitsuiye T, Wang Z, Noma A. Increase of the delayed rectifier KC and Na(C)-KC pump currents by hypotonic solutions in guinea pig cardiac myocytes. *Circ Res* 75: 887-95, 1994.
143. Hamill OP, McBride D. Rapid adaptation of single mechanosensitive channels in *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Acad Sci* 89: 7462-6, 1992.
144. Sokabe M, Sachs F. Towards molecular mechanism of activation in mechanosensitive ion channels. In: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. F Ito (ed.). Berlin/Heidelberg, Springer-Verlag 10: 55-77, 1992.
145. Lowy DR, Willumsen BM. Function and Regulation of RAS. *Annu Rev Biochem* 62: 851-91, 1993.
146. Kaibuchi K, Kuroda S, Amano M. Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Annu Rev Biochem* 68: 459-86, 1999.
147. Sah VP, Seasholtz TM, Sagi AS, Brown JH. The role of Rho in G protein N-coupled receptor signal transduction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 459-89, 2000.
148. Thorburn A, Thorburn J, Chen SY, Powers S, Shubeita HE, Feramisco JR, Chien KR. HRas-dependent pathways can activate morphological and genetic markers of cardiac muscle cell hypertrophy. *J Biol Chem* 268: 2244-9, 1993.

149. Hunter JJ, Tanaka N, Rockman HA, Ross J Jr, Chien KR. Ventricular expression of a MLC-2v-ras fusion gene induces cardiac hypertrophy and selective diastolic dysfunction in transgenic mice. *J Biol Chem* 270: 23173-8, 1995.
150. Thorburn A. Ras activity is required for phenylephrine-induced activation of mitogen-activated protein kinase in cardiac muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 205: 1417-22, 1994.
151. Sah VP, Hoshijima M, Chien KR, Brown JH. Rho is required for Galphaq and α 1-adrenergic receptor signaling in cardiomyocytes. Dissociation of Ras and Rho pathways. *J Biol Chem* 271: 31185-90, 1996.
152. Thorburn J, Xu S, Thorburn A. MAP kinase- and Rho-dependent signals interact to regulate gene expression but not actin morphology in cardiac muscle cells. *EMBO J* 16: 1888-900, 1997.
153. Hoshijima M, Sah VP, Wang Y, Chien KR, Brown JH. The low molecular weight GTPase Rho regulates myofibril formation and organization in neonatal rat ventricular myocytes. Involvement of Rho kinase. *J Biol Chem* 273: 7725-30, 1998.
154. Aikawa R, Komuro I, Yamazaki T, Zou Y, Kudoh S, Zhu W, Kadowaki T, Yazaki Y. Rho family small G proteins play critical roles in mechanical stress-induced hypertrophic responses in cardiac myocytes. *Circ Res* 84: 458-66, 1999.
155. Sah VP, Minamisawa S, Tam SP, Wu TH, Dorn GW, Ross J, Chien KR, Brown JH. Cardiac-specific overexpression of RhoA results in sinus and atrioventricular nodal dysfunction and contractile failure. *J Clin Invest* 103: 1627-34, 1999.
156. Ip YT, Davis RJ. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK)-from inflammation to development. *Curr Opin Cell Biol* 10: 205-19, 1998.
157. New L, Han J. The p38 MAP kinase pathway and its biological function. *Trends Cardiovasc Med* 8: 220-8, 1998.
158. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 9: 180-6, 1997.
159. Lopez-Illasaca M. Signaling from G-protein-coupled receptors to mitogen-activated protein (MAP)-kinase cascades. *Biochem Pharmacol* 56: 269-77, 1998.
160. Sugden PH, Clerk A. Cellular mechanisms of cardiac hypertrophy. *J Mol Med* 76: 725-46, 1998.
161. Sugden PH, Clerk A. Regulation of the ERK subgroup of MAP kinase cascades through G protein-coupled receptors. *Cell Signal* 9: 337-51, 1997.
162. Sugden PH, Clerk A. "Stress-responsive" mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium. *Circ Res* 83: 345-52, 1998.
163. Clerk A, Michael A, Sugden PH. Stimulation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in neonatal rat ventricular myocytes by the G protein-coupled receptor agonists, endothelin-1 and phenylephrine: a role in cardiac myocyte hypertrophy? *J Cell Biol* 142: 523-35, 1998.
164. Glennon PE, Kaddoura S, Sale EM, Sale GJ, Fuller SJ, Sugden PH. Depletion of mitogen-activated protein kinase using an antisense oligodeoxynucleotide approach downregulates the phenylephrine-induced hypertrophic response in rat cardiac myocytes. *Circ Res* 78: 954-61, 1996.
165. Ramirez MT, Sah VP, Zhao XL, Hunter JJ, Chien KR, Brown JH. The MEKK-JNK pathway is stimulated by α 1-adrenergic receptor and ras activation and is associated with in vitro and in vivo cardiac hypertrophy. *J Biol Chem* 272: 14057-61, 1997.
166. Wang YB, Su B, Sah VP, Brown JH, Han JH, Chien KR. Cardiac hypertrophy induced by mitogen-activated protein kinase kinase 7, a specific activator for c-Jun NH 2-terminal kinase in ventricular muscle cells. *J Biol Chem* 273: 5423-6, 1998.
167. Choukroun G, Hajjar R, Fry S, del Monte F, Haq S, Guerrero JL, Picard M, Rosenzweig A, Force T. Regulation of cardiac hypertrophy in vivo by the stress-activated protein kinases/c-Jun NH 2-terminal kinases. *J Clin Invest* 104: 391-8, 1999.
168. Choukroun G, Hajjar R, Kyriakis JM, Bon-ventre JV, Rosenzweig A, Force T. Role of the stress-activated protein kinases in endothelin-induced cardiomyocyte hypertrophy. *J Clin Invest* 102: 1311-20, 1998.
169. Ito H, Hirata Y, Adachi S, Tanaka M, Tsujino M, Koike A, Nogami A, Murumo F, Hiroe M. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *J Clin Invest* 92: 398-403, 1993.
170. Shubeita HE, McDonough PM, Harris AN, Knowlton KU, Glembotski CC, Brown JH, Chien KR. Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. A paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 265: 20555-62, 1990.
171. Mende U, Kagen A, Cohen A, Aramburu J, Schoen FJ, Neer EJ. Transient cardiac expression of constitutively active G α q leads to hypertrophy and dilated cardiomyopathy by calcineurin-dependent and independent pathways. *Proc Natl Acad Sci* 95: 13893-8, 1998.
172. Akhter SA, Luttrell LM, Rockman HA, Iaccarino G, Lefkowitz RJ, Koch WJ. Targeting the receptor-Gq interface to inhibit in vivo pressure overload myocardial hypertrophy. *Science* 280: 574-7, 1998.
173. Dunnmon PM, Iwaki K, Henderson SA, Sen A, Chien KR. Phorbol esters induce immediate-early genes and activate cardiac gene transcription in neonatal rat myocardial cells. *J Mol Cell Cardiol* 22: 901-10, 1990.
174. Henrich CJ, Simpson PC. Differential acute and chronic response of protein kinase C in cultured neonatal rat heart myocytes to α -1-adrenergic and phorbol ester stimulation. *J Mol Cell Cardiol* 20: 1081-5, 1988.
175. Braun AP, Schulman H. The multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase: from form to function. *Annu Rev Physiol* 57: 417-45, 1995.
176. Edman CF, Schulman H. Identification and characterization of delta B-CaM kinase and delta C-CaM kinase from rat heart, two new multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase

- isoforms. *Biochim Biophys Acta* 1221: 89-101, 1994.
177. Mayer P, Mohlig M, Idlibe D, Pfeiffer A. Novel and uncommon isoforms of the calcium sensing enzyme calcium/calmodulin dependent protein kinase II in heart tissue. *Basic Res Cardiol* 90: 372-9, 1995.
178. Schworer CM, Rothblum LI, Thekkumkara TJ, Singer HA. Identification of novel isoforms of the delta subunit of Ca^{+2} /calmodulin-dependent protein kinase II. Differential expression in rat brain and aorta. *J Biol Chem* 268: 14443-9, 1993.
179. Tobimatsu T, Fujisawa H. Tissue-specific expression of four types of rat calmodulin-dependent protein kinase II mRNAs. *J Biol Chem* 264: 17907-12, 1989.
180. Ramirez MT, Zhao XL, Schulman H, Brown JH. The nuclear delta B isoform of Ca^{+2} /calmodulin-dependent protein kinase II regulates atrial natriuretic factor gene expression in ventricular myocytes. *J Biol Chem* 272: 31203-8, 1997.
181. Passier R, Zeng H, Frey N, Naya FJ, Nicol RL, McKinsey TA, Overbeek P, Richardson JA, Grant SR, Olson EN. CaM kinase signaling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *J Clin Invest* 105: 1395-406, 2000.