Caroline Antunes Lino

**Contribuição da sinalização dependente de beta-arrestinas, via
receptor de angiotensina II do tipo 1, na hipertrofia cardiomiocítica
induzida por T3**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Morfofuncionais do Departamento de
Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para obtenção do Título
de Doutor em Ciências

Área de concentração: Ciência Morfofuncionais

Orientadora: Dra. Maria Luiza Morais Barreto de
Chaves

Versão Original

São Paulo

2018

RESUMO

LINO, Caroline Antunes. **Contribuição da sinalização dependente de beta-arrestinas via receptor de angiotensina II do tipo 1 na hipertrofia cardiomiocítica induzida por T3**. 2018. 127f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Níveis elevados de hormônios tireoidianos (HTs) são comumente associados à ativação do sistema renina angiotensina local e ao desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. O envolvimento do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1R) nos efeitos hipertróficos dos HTs fora descrito previamente. No entanto, os mecanismos subjacentes a essa interação ainda são desconhecidos. O AT1R pertence à família dos receptores acoplados à proteína G e, portanto, promove a transdução de sinal por mecanismos dependentes e independentes de proteína G. Recentemente, a sinalização dependente de beta-arrestinas (independente de proteína G) tem sido descrita por contribuir com a resposta hipertrófica em diferentes modelos experimentais. Assim, no presente estudo investigou-se o envolvimento da sinalização dependente de beta-arrestinas nos efeitos hipertróficos dos HTs, mediados pelo AT1R, bem como a participação de ERK_{1/2} nesse processo. Culturas primárias de cardiomiócitos foram estimuladas com T3 (triiodotironina; 15nM) para indução da hipertrofia. O tratamento dos cardiomiócitos com T3 por tempos rápidos (5-30 min) resultou na ativação transiente de ERK_{1/2}, a qual foi parcialmente atenuada quando da administração de Losartan (1uM), antagonista do AT1R. A contribuição de ERK_{1/2} na hipertrofia dos cardiomiócitos foi verificada através do uso de PD98059 (20uM), inibidor de MEK_{1/2}, o qual preveniu a transcrição de marcadores hipertróficos. Ensaios de imunoprecipitação revelaram o aumento da interação entre AT1R e beta-arrestina 2 sob estímulo do T3, sugerindo o recrutamento de beta-arrestina 2 e, possível, internalização do AT1R. Através de ensaios de imunofluorescência e fracionamento subcelular, foi demonstrado que o T3 estimula a translocação do AT1R, amentando sua expressão no núcleo dos cardiomiócitos. Além disso, tanto a ativação de ERK_{1/2} quanto a hipertrofia cardiomiocítica mostraram-se sensíveis à inibição da endocitose, a qual foi avaliada através de Concanavalina A (0,5ug/ml). Ensaios de silenciamento gênico por RNA de interferência foram eficientes em demonstrar o envolvimento de beta-arrestina 2 na ativação de ERK_{1/2} e na hipertrofia cardiomiocítica induzida por T3. Desta forma, os resultados evidenciam o envolvimento da sinalização dependente de beta-arrestina 2 na ativação de ERK_{1/2}, através do AT1R, a qual contribui com a hipertrofia cardiomiocítica promovida pelo T3.

Palavras-Chave: Hipertrofia Cardíaca. Hormônios Tireoidianos. GPCR. Receptor de Angiotensina II do tipo I. Beta-arrestinas. Internalização de Receptores.

ABSTRACT

LINO, Caroline Antunes. **Contribution of beta-arrestin signaling mediated by angiotensin II receptor type 1 in cardiomyocyte hypertrophy induced by T3.** 2018. 127f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Elevated levels of thyroid hormones (THs) are commonly associated with activation of the local renin angiotensin system and the development of cardiac hypertrophy. The involvement of the angiotensin II receptor type 1 (AT1R) in the hypertrophic effects of the THs was previously described. However, the mechanisms underlying this interaction are still unknown. AT1R belongs to the G-protein coupled receptor family and promotes its signal transduction by G-protein dependent and independent mechanisms. Recently, beta-arrestin signaling (G-protein independent) has been described as contributing to the hypertrophic response in different experimental models. Thus, the present study investigated the involvement of beta-arrestin signaling in the hypertrophic effects of THs mediated by AT1R, as well as the participation of ERK_{1/2} in this process. Primary cardiomyocytes cultures were stimulated with T3 (triiodothyronine; 15nM) for the induction of hypertrophy. Cardiomyocytes acutely treated with T3 (5-30 min) resulted in transient activation of ERK_{1/2}, which was partially attenuated upon Losartan (1uM) administration, an AT1R antagonist. The contribution of ERK_{1/2} to cardiomyocyte hypertrophy was verified by using PD98059 (20uM), a MEK_{1/2} inhibitor, which prevented the transcription of hypertrophic markers. Immunoprecipitation assays revealed increased interaction between AT1R and beta-arrestin 2 under T3 stimulation, suggesting the recruitment of beta-arrestin 2 and, possibly, the internalization of AT1R. Through immunofluorescence and subcellular fractionation assays, T3 has been shown to stimulate AT1R translocation, enhancing its expression in the cardiomyocyte nucleus. In addition, both ERK_{1/2} activation and cardiomyocyte hypertrophy were sensitive to the inhibition of endocytosis, which was assessed by Concanavalin A (0.5ug/ml). Interfering RNA assays were efficient in demonstrating the involvement of beta-arrestin 2 in ERK_{1/2} activation and in T3-induced cardiomyocyte hypertrophy. Therefore, the results evidenced the involvement of beta-arrestin-2-dependent signaling in the activation of ERK_{1/2}, through the AT1R, which contributes to the cardiomyocyte hypertrophy promoted by T3.

Key Words: Cardiac hypertrophy. Thyroid Hormones. Angiotensin II Type 1 Receptor. GPCR. Beta-arrestins. Receptor Internalization.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertrofia cardíaca

A hipertrofia cardíaca consiste no aumento do músculo cardíaco ou miocárdio. Trata-se de uma resposta adaptativa do coração à demanda sistêmica ou a estímulos neuro-humorais na tentativa de manter a perfusão dos órgãos periféricos através do bombeamento de sangue na circulação. No entanto, a hipertrofia ventricular consiste em um fator de risco para o desenvolvimento de insuficiência cardíaca e arritmias (Levy *et al.*, 1990), sendo o a prevenção ou atenuação da resposta hipertrófica considerados benéficos.

Embora questionado na literatura, a hipertrofia cardíaca pode ser classificada como fisiológica ou patológica, sendo diferenciadas por seus mecanismos moleculares, fenótipo e prognóstico (Dorn, 2007; Haque e Wang, 2017; Nakamura e Sadoshima, 2018). Exercício físico de resistência, gestação (Eghbali *et al.*, 2005) e o desenvolvimento cardíaco pós-natal são exemplos de hipertrofia fisiológica que se caracterizam pela manutenção da função sistólica (ejeção de sangue) e por sua natureza reversível. Em contrapartida, a hipertrofia patológica pode ser desencadeada por estímulos neuro-humorais, sobrecarga de pressão ou volume, sendo acompanhada por eventos cardiovasculares adversos, como insuficiência cardíaca, arritmias e morte súbita (Hill e Olson, 2008; Gibb e Hill, 2018).

A hipertrofia do músculo cardíaco está diretamente relacionada à hipertrofia das células musculares cardíacas, as quais contribuem com apenas um terço do conteúdo celular do miocárdio, mas ocupam cerca de três quartos do seu volume total. As alterações geométricas dos cardiomiócitos definem as mudanças na arquitetura do miocárdio ventricular (diâmetro ventricular interno/espessura da parede ventricular) que, por último, determinam as consequências funcionais da hipertrofia (Hill e Olson, 2008).

Assim, o crescimento do coração pode ser excêntrico, caracterizado pelo aumento proporcional entre câmara e parede ventriculares, devido à disposição dos sarcômeros (unidade celular contrátil) em série e crescimento longitudinal dos cardiomiócitos; ou concêntrico, caracterizado pelo espessamento da parede ventricular,

devido à disposição dos sarcômeros em paralelo e crescimento lateral dos cardiomiócitos. A hipertrofia patológica geralmente apresenta uma morfologia concêntrica, que progride para a dilatação exacerbada da câmara ventricular (cardiomiopatia dilatada), morte dos cardiomiócitos e fibrose intersticial (Gibb e Hill, 2018).

Nos cardiomiócitos, os estímulos hipertróficos geralmente exercem seus efeitos através de receptores acoplados à proteína G (GPCRs), receptores tirosina quinase ou por mecanoreceptores. Os aspectos moleculares da sinalização decorrente dos estímulos biomecânicos ainda são desconhecidos, mas provavelmente envolvem a ativação de canais iônicos sensíveis ao estiramento, proteínas da matriz extracelular e do citoesqueleto. A ativação desses receptores leva à modulação de vias, tais como MAPK/ERK, calcineurina-NFAT, Akt/mTOR, as quais promovem o aumento da síntese proteica, rearranjo das unidades sarcoméricas, alterações metabólicas e contráteis que, em conjunto, caracterizam a hipertrofia.

O fenótipo da hipertrofia é determinado primordialmente pela natureza do estímulo hipertrófico e, conseqüentemente, na sinalização deflagrada pelos mesmos (Perrino *et al.*, 2006; Nakamura e Sadoshima, 2018). No entanto, sabemos que os mecanismos moleculares e bioquímicos que caracterizam os tipos de hipertrofia podem se sobrepor e, assim, as consequências funcionais do processo hipertrófico dependem de cada contexto, do tipo, intensidade e duração do insulto (Dorn, 2007; Nakamura e Sadoshima, 2018).

1.2 Hipertrofia cardíaca e a sinalização MAPK/ERK

As respostas celulares são mediadas por um complexo, mas coordenado, circuito de vias de sinalização. Essas vias controlam processos essenciais, tais como transcrição gênica, tradução de proteínas, reorganização do citoesqueleto, endocitose e proliferação. O crescimento e a sobrevivência dos cardiomiócitos podem ser regulados por ligantes extracelulares, fatores de crescimento e por citocinas que se ligam a receptores presentes na membrana plasmática e ativam vias de sinalização.

Diversas vias já foram descritas por intermediar a resposta hipertrófica, dentre as quais destacamos as principais vias ativadas por cálcio, como calcineurina/NFAT e cálcio/calmodulina quinase, vias desencadeadas por fatores neuro-humorais, como a via Akt/mTOR, e vias ativadas por estímulos mecânicos, como as *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPKs). Ainda, a ativação das MAPKs pode ser desencadeada por receptores acoplados à proteína G (angiotensina II, endotelina, catecolaminas), por receptores tirosina quinase (fatores de crescimento semelhantes à insulina) ou por mecanoreceptores. Esta sinalização é iniciada pelas *small GTPases*, as quais promovem a ativação das *MAPK kinases kinases* (MAP3Ks) e estas das *MAPK kinases* (MAP2Ks). Por fim, as MAP2Ks ativam as MAPKs que apresentam uma grande variedade de alvos citosólicos e nucleares, que permite a regulação de importantes aspectos da fisiologia celular. As principais MAPKs são as *extracellularly responsive kinases* (ERK_{1/2}), *c-Jun N-terminal kinase* (JNK), p38, ERK5, ERK3/4 e ERK8 (Sugden e Clerk, 1998).

As proteínas ERK₁ e ERK₂ apresentam cerca 84% de similaridade e compartilham as mesmas vias de sinalização. Por este motivo, são comumente descritas como ERK_{1/2} (Mutlak e Kehat, 2015). Diversos estudos têm reportado a importante contribuição dessa via e de ERK_{1/2} na hipertrofia cardíaca. Animais transgênicos com superexpressão de MEK_{1/2} desenvolvem uma hipertrofia cardíaca compensada, com menor propensão à injúria isquêmica. Além do seu envolvimento no processo hipertrófico, alguns estudos também evidenciam um efeito protetor mediado por ERK_{1/2} (Bueno *et al.*, 2000).

Figura 1: Esquema da sinalização mediada pelas principais MAPKs, ERK, JNK e p38. Os sinais hipertróficos (fatores de crescimento; estímulos biomecânicos) são intermediados pela ativação de receptores e canais iônicos, os quais recrutam *small GTPases* e outras quinases que fosforilam as MAP3Ks que, por sua vez, fosforilam as MAP2Ks e estas as MAPKs (Bueno e Molkentin, 2002).

1.3 Hormônios tireoidianos e seus mecanismos de ação

Os hormônios tireoidianos (HTs) são sintetizados pela glândula tireoide por meio da iodação da tireoglobulina. A L-tiroxina ou T4 corresponde à principal iodotironina secretada na circulação (>80%), sendo convertida à 3,3',5-triiodo-L-tironina (T3) mediante reação de monodesiodação. Essa reação é catalisada pelas desiodases (D1 e D2), enzimas localizadas em diferentes tecidos (fígado, rim coração), que proporcionam a síntese extratireoidiana do T3.

O T3 consiste no hormônio com maior afinidade pelos receptores nucleares, comparado ao T4, e por esse motivo é considerado o hormônio biologicamente ativo.

Os hormônios tireoidianos não são lipossolúveis e, portanto, devem ser conduzidos ao citoplasma por meio de transportadores localizados na membrana plasmática. Os transportadores da família monocarboxilato dos tipos 8 e 10 (MCT8 e MCT10) são os que apresentam maior afinidade pelas iodotironinas (Razvi *et al.*, 2018).

Classicamente, os HTs promovem seus efeitos intracelulares mediante interação com receptores nucleares, os *thyroid hormone receptors* (TRs), os quais agem constitutivamente como repressores da maquinaria transcricional. Os TRs são codificados por dois genes distintos, TR α e TR β , os quais dão origem a diferentes isoformas: TR α 1, 2 e 3 e TR β 1, 2 e 3 (Zhang e Lazar, 2000). No núcleo, esses receptores são encontrados na forma de heterodímeros, associados aos receptores de ácido retinóico, em sequências específicas do DNA, os *T3 response elements* (TREs) (Zhang e Lazar, 2000; Davis *et al.*, 2008). A ligação do T3 ao receptor culmina no recrutamento de co-ativadores ou co-repressores que modulam a transcrição gênica, atuando como fatores de transcrição dependentes do ligante. A ação clássica dos HTs tem sido descrita como genômica, por mediar ações relacionadas à transcrição.

Além dos efeitos genômicos, os HTs também exercem seus efeitos por mecanismos que independem da formação do complexo intranuclear receptor/ligante e, portanto, independem de transcrição gênica. Esses efeitos são observados rapidamente (de segundos a poucas horas) e são mediados por canais iônicos e por receptores localizados na membrana plasmática, no citoplasma ou, ainda, em organelas celulares como a mitocôndria (Selmi e Samuels, 1991; Lin *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2008). Esses receptores extranucleares podem apresentar homologia com os receptores nucleares de HTs, como TR β 1 (Kalyanaraman *et al.*, 2014), ou nenhuma homologia, como é o caso da integrina $\alpha\text{v}\beta$ 3, a qual apresenta um domínio de ligação aos HTs (Bergh *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 2016).

Disfunções ou doenças da glândula tireóide levam ao desenvolvimento de síndromes quase sempre associadas a manifestações cardiovasculares. Os vasos e o coração são órgãos extremamente responsivos aos níveis séricos de hormônios tireoidianos, neste sentido pequenas alterações nas concentrações hormonais, inclusive subclínicas, podem acarretar complicações cardiovasculares.

Figura 2: Esquema representativo dos mecanismos de ação dos hormônios tireoidianos em células presentes no miocárdio. Os hormônios tireoidianos podem agir em seus receptores nucleares (TR α 1 e TR β 1) para regulação da transcrição gênica ou através de receptores presentes no citoplasma e da integrina $\alpha V\beta 3$, localizada na membrana plasmática, os quais medeiam a modulação rápida de vias de sinalização associadas à síntese proteica; células endoteliais (EC); cardiomiócitos (CM); fibroblastos (FB); (Ojamaa, 2010).

1.4 Hormônios tireoidianos e hipertrofia cardíaca

Um dos estímulos hormonais associados ao desenvolvimento da hipertrofia cardíaca consiste nos elevados níveis de hormônios tireoidianos. A relação entre hormônios tireoidianos e coração é crítica desde o desenvolvimento cardíaco pós-natal, onde os níveis de T3 e T4 aumentam drasticamente após o nascimento e estimulam a transcrição de genes cardíacos, que contribuem para o aumento da massa e do desempenho cardíacos (Chattergoon *et al.*, 2012; Nakamura e Sadoshima, 2018). No adulto, os hormônios tireoidianos contribuem para a homeostasia do tecido cardíaco (Klein e Danzi, 2007; Cini *et al.*, 2009) e, neste sentido, doenças da glândula tireóide são acompanhadas de manifestações cardiovasculares (Klein e Ojamaa, 2001; Kahaly e Dillmann, 2005).

Os elevados níveis de hormônios tireoidianos, observados no hipertireoidismo, induzem a um estado cardiovascular hiperdinâmico caracterizado pelo aumento da pressão arterial sistêmica, diminuição da resistência vascular periférica, aumento do volume sanguíneo, elevação do débito cardíaco. Esses efeitos sistêmicos (indiretos), somados aos efeitos diretos dos hormônios tireoidianos na célula muscular cardíaca, resultam no desenvolvimento da hipertrofia (Dörr *et al.*, 2005).

A hipertrofia decorrente do hipertireoidismo tem sido definida por muitos autores como fisiológica. O hipertireoidismo de duração limitada resulta no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca concêntrica, no entanto com função sistólica preservada e ausência de remodelamento do tecido cardíaco (Hu *et al.*, 2005). Ainda, o crescimento dos cardiomiócitos é acompanhado da proliferação de outros tipos celulares, do sistema vascular por exemplo (angiogênese), que garante a manutenção da homeostase (Tomanek e Busch, 1998; Liu *et al.*, 2009). Além do aumento da síntese de proteínas, devido à maior eficiência no processo de tradução ribossomal, dados ainda não publicados do nosso grupo evidenciam a ativação de vias proteolíticas (sistema ubiquitina proteassoma), que garantem o controle de qualidade de proteínas, crítico para manutenção da função cardíaca (Depre *et al.*, 2006; Powell *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015). No entanto, apesar dos efeitos benéficos e cardioprotetores dos HTs (Tavares *et al.*, 2013; Da Silva *et al.*, 2018), casos de pacientes hipertireoideos com insuficiência cardíaca congestiva e cardiomiopatia dilatada já foram reportados (Boccalandro *et al.*, 2003; Siu *et al.*, 2007).

As ações diretas dos hormônios tireoidianos são mediadas por seus receptores nucleares, TR α e TR β . Ambas as isoformas são expressas nos cardiomiócitos e medeiam a expressão de miofibrilas que compõem o filamento fino do aparato contrátil (α e β -MHC), reguladores da liberação/captação de cálcio no retículo sarcoplasmático (Ca²⁺ATPase e Fosfolambam), dos transportadores (Na⁺/K⁺-ATPase), trocadores (Na⁺/Ca²⁺) e canais iônicos (Kv) presentes na membrana plasmática (Klein e Ojamaa, 2001). O aumento na transcrição de genes relacionados ao aparato contrátil promovem o aumento do inotropismo (contratilidade cardíaca) e do cronotropismo (frequência cardíaca) cardíacos (Fazio *et al.*, 2004). Além das ações clássicas dos HTs em seus

receptores nucleares, a hipertrofia cardíaca também pode resultar da modulação de vias intracelulares iniciadas no citoplasma ou na membrana plasmática (Davis e Davis, 2002; Bergh *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 2016). Uma importante via de sinalização associada a esse modelo é a da PI3K/Akt/mTOR, a qual pode ser ativada rapidamente por receptores TR α 1 presentes no citoplasma (Kenessey e Ojamaa, 2006).

Crescentes evidências têm demonstrado que os HTs modulam outros sistemas, como o sistema adrenérgico e o sistema renina angiotensina, cujos componentes medeiam as ações hipertróficas dos hormônios tireoidianos. Estudos *in vivo* e *in vitro* evidenciam uma relação direta entre o estado tireóideo e os níveis plasmáticos e teciduais dos componentes do SRA (Vargas *et al.*, 2012). Assim, o hipertireoidismo experimental é acompanhado do aumento da atividade e do conteúdo de renina plasmático e cardíaco; e o aumento na expressão e atividade desses componentes estão relacionados, por sua vez, aos efeitos tróficos exercidos pelos hormônios tireoidianos (Kobori *et al.*, 1997; Kobori *et al.*, 1999). De maneira interessante, estudos do nosso grupo demonstraram que o bloqueio dos receptores de angiotensina II (AT1R e AT2R) reduz a hipertrofia cardíaca induzida pelos hormônios tireoidianos, assim como o crescimento de cardiomiócitos em cultura (Diniz *et al.*, 2009; Takano *et al.*, 2013). Entretanto, os mecanismos relacionados com a interação desses dois sistemas ainda são desconhecidos.

Compound	Hyperthyroidism	Hypothyroidism
Plasma		
Angiotensinogen	↑ (Dzau & Herrmann 1982, Marchant <i>et al.</i> 1993); ↓ (Jiménez <i>et al.</i> 1982)	↓ (Bouhnik <i>et al.</i> 1981, Jiménez <i>et al.</i> 1982, Katz 2003)
Renin	↑ (Hauger-Klevene & Levin 1976, Jiménez <i>et al.</i> 1982, Santos & Ferreira 2007)	↑ (Jiménez <i>et al.</i> 1984); ↓ (Hauger-Klevene & Levin 1976, Jiménez <i>et al.</i> 1982)
Angiotensin-converting enzyme	↑ (Phillips <i>et al.</i> 1993)	↓ (Montiel <i>et al.</i> 1987, Jiménez <i>et al.</i> 1990)
Angiotensin II	↑ (Marchant <i>et al.</i> 1993, Garcia del Río <i>et al.</i> 1997, Kobori <i>et al.</i> 1997a,b)	↓ (Marchant <i>et al.</i> 1993, Kobori <i>et al.</i> 1997a,b)
New RAS components	–	–
Heart		
Renin	↑ (Kobori <i>et al.</i> 1997a,b)	–
Angiotensin II	↑ (Kobori <i>et al.</i> 1997a,b, 1999, Diniz <i>et al.</i> 2007)	= (Carneiro-Ramos <i>et al.</i> 2007)
AT ₁ R	→ (Carneiro-Ramos <i>et al.</i> 2010); ↓ (Marchant <i>et al.</i> 1993)	= (Marchant <i>et al.</i> 1993); ↑ (Carneiro-Ramos <i>et al.</i> 2007)
AT ₂ R	↑ (Marchant <i>et al.</i> 1993, Carneiro-Ramos <i>et al.</i> 2010)	↑ (Marchant <i>et al.</i> 1993, Carneiro-Ramos <i>et al.</i> 2007)
Kidney		
Renin	↑ (Bouhnik <i>et al.</i> 1981, Kobori <i>et al.</i> 1997a,b, Klein & Ojamaa 2001)	↓ (Kobori <i>et al.</i> 1997a,b)
Angiotensin II	↑ (Klein & Ojamaa 2001)	–
AT ₁ R	–	↓ (Chen <i>et al.</i> 2005)
AT ₂ R	–	↑ (Chen <i>et al.</i> 2005)
Vessels		
Renin	–	–
Angiotensin II	–	–
AT ₁ R	↓ (Fukuyama <i>et al.</i> 2003)	–
AT ₂ R	↑ (Barreto-Chaves <i>et al.</i> 2010)	–

Figura 3: Tabela dos principais trabalhos associando a modulação do sistema renina-angiotensina sistêmico e local (coração, rim e vasos) às doenças da glândula tireóide, hipertireoidismo e hipotireoidismo (Vargas *et al.*, 2012).

1.5 Sistema renina angiotensina

O Sistema Renina-Angiotensina (SRA) consiste em um complexo sistema hormonal intensamente investigado na literatura devido à sua importante função na regulação da pressão arterial sistêmica e no balanço hidroeletrólítico. Tradicionalmente, o SRA consiste em um sistema endócrino envolvido com a síntese de angiotensina II (AngII), peptídeo biologicamente ativo, que corresponde ao produto de reações que ocorrem na circulação.

O angiotensinogênio, uma α -glicoproteína sintetizada nas células hepáticas, corresponde ao substrato primário desse sistema. O angiotensinogênio é clivado na circulação pela renina, enzima sintetizada pelas células justaglomerulares do rim, dando origem a um decapeptídeo, a angiotensina I, que pode ser convertida em AngII, um octapeptídeo. Essa conversão se dá por intermédio da enzima conversora de

angiotensina (ECA), sintetizada, predominantemente, pelas células endoteliais do sistema vascular pulmonar.

A AngII exerce seus efeitos através de receptores de membrana que apresentam uma estrutura de sete domínios transmembranares, o receptor de angiotensina II do tipo 1 (AT1R) e do tipo 2 (AT2R), que pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G, GPCRs (*G-protein coupled receptors*). O AT1R é responsável por mediar os principais efeitos fisiológicos atribuídos à AngII. Em contrapartida o aumento de sua atividade pode resultar no desenvolvimento de diversas condições patológicas, tais como hipertensão, hipertrofia cardíaca, remodelamento vascular, aneurisma e aterosclerose. Desta forma, inibidores farmacológicos do AT1R têm sido intensamente utilizados na terapia cardiovascular.

Apesar da importante função sistêmica do SRA, sua complexidade está relacionada à existência de subsistemas que, potencialmente, promovem a biossíntese local de AngII. O SRA local exerce ações autócrinas (Sadoshima *et al.*, 1993), parácrinas (Lyu *et al.*, 2015) ou, ainda, intrácrinas (Kumar *et al.*, 2012), que independem dos componentes do SRA sistêmico. Sugere-se que esses subsistemas estejam relacionados com a regulação fina da homeostasia tecidual (Baker *et al.*, 2004), sendo identificado em diversos sistemas orgânicos e no coração (Dzau, 1988; Danser, 1996).

1.6 Sinalização dependente e independente de proteína G

Os GPCRs regulam diversas funções celulares. A via de transdução clássica dos GPCRs é mediada pela ativação de proteína G, formação de segundos mensageiros e ativação de efetores *downstream* na cascata de sinalização. No entanto, além da sinalização dependente de proteína G, um outro tipo de sinalização, dependente de beta-arrestinas, tem sido descrito recentemente.

A ativação dos GPCRs envolve mudanças estéricas no receptor, ou seja, na conformação da molécula, as quais promovem a ativação de proteína G. A ativação dessa proteína heterotrimérica resulta na dissociação de suas subunidades constituintes, G_α e $G_{\beta\gamma}$ e consequente ativação de enzimas, como fosfolipase C (PLC),

que agem sobre o fosfatidil inositol bifosfato e promovem a formação de diacilglicerol e inositol trifosfato, os quais agem como segundo mensageiro. O inositol trifosfato, por meio de receptores específicos no retículo sarcoplasmático, promove o aumento de cálcio citoplasmático, favorecendo a ativação de proteínas cálcio-dependentes.

Os GPCRs apresentam dois mecanismos de regulação da sinalização, que são: a dessensibilização e a internalização dos receptores (Attramadal *et al.*, 1992; Krupnick e Benovic, 1998). O processo de dessensibilização compreende a fosforilação do receptor por proteínas citoplasmáticas, as *G protein-coupled receptor kinases* (GRKs). As GRKs reconhecem mudanças na estrutura do receptor e fosforilam os resíduos presentes no terceiro *loop* citoplasmático ou na cauda C-terminal dos GPCRs (Ferguson *et al.*, 1995). Além das GRKs, outras proteínas citoplasmáticas também podem intermediar a fosforilação dos receptores ativados como a proteína quinase A (PKA) e a PKC (Dewire *et al.*, 2007). Ao reconhecerem o sítio fosforilado, proteínas denominadas beta-arrestinas (β ARRs) são recrutadas e promovem a internalização do receptor.

A família das arrestinas consiste em 4 membros. As arrestinas visuais (arrestinas 1 e 4), expressas exclusivamente na retina, e as arrestinas não-visuais (arrestinas 2 e 3 ou beta-arrestinas 1 e 2, respectivamente), as quais são ubiquamente expressas. Inicialmente, as beta-arrestinas foram descritas como “reguladores negativos” da sinalização mediada por GPCRs (do inglês *arrestin* significa parada; interrupção). As beta-arrestinas são proteínas adaptadoras e interagem com proteínas da via de endocitose dependente de clatrin, como as subunidades β do complexo AP2 (*clathrin adaptor protein*), que interagem com depressões revestidas de clatrina, presentes na membrana plasmática, e permitem a formação de vesículas de endocitose que englobam o receptor ativado (Goodman *et al.*, 1996).

Figura 4: Representação do papel das beta-arrestinas no mecanismo de dessensibilização, internalização e transporte intracelular de GPCRs. A fosforilação do receptor ativado pelas GRKs leva ao recrutamento de beta-arrestinas e interrupção da sinalização mediada por proteína G (1). As beta-arrestinas ancoram proteínas da maquinaria de endocitose dependente de clatrina e promovem a internalização dos GPCRs (2). A interação do receptor/beta-arrestina é determinante no destino do receptor internalizado. Receptores de classe B, por apresentarem uma interação mais forte com as beta-arrestinas, são reciclados ou degradados mais tardiamente, quando comparados aos receptores de classe A (3). (Luttrell e Lefkowitz, 2002).

Convencionalmente, a internalização de receptores está relacionada com a interrupção da sinalização mediada por proteína G, uma vez que esses receptores se tornam indisponíveis aos seus ligantes na membrana plasmática. Todavia, recentes estudos têm demonstrado que as beta-arrestinas recrutam proteínas sinalizadoras que são ativadas pelo receptor contido nas vesículas de endocitose. Desta forma, as beta-arrestinas medeiam uma segunda sinalização, a sinalização independente de proteína G ou dependente de beta-arrestinas.

As beta-arrestinas interagem com uma grande diversidade de proteínas sinalizadoras, tais como ERK, JNK, p38, AKT, PI3K e RhoA (Luttrell *et al.*, 2001; Dewire *et al.*, 2007; Xiao *et al.*, 2007). Essas proteínas, quando ativadas por beta-arrestinas, apresentam efeitos intracelulares distintos da sinalização mediada por proteína G. A exemplo, o receptor de angiotensina II do tipo 1 (AT1R), por intermediar a maioria dos efeitos deletérios da angiotensina II no sistema cardiovascular é o principal alvo dos inibidores farmacológicos disponíveis. Em contrapartida, estudos com análogos de AngII tendenciosos (TRV120023) que, neste caso, favorecem a sinalização mediada por beta-arrestinas e inibem a sinalização dependente de proteína G, reportam a melhora de parâmetros hemodinâmicos e biomecânicos em camundongos submetidos à injúria cardíaca (Kim *et al.*, 2012), indicando efeitos benéficos dessa sinalização no tecido cardíaco. Ainda, outros trabalhos têm investigado a contribuição das beta-arrestinas em diferentes condições fisiológicas e patológicas. Morisco e col. demonstraram que a hipertrofia cardiomiocítica induzida por isoproterenol é mediada pela ativação da Akt dependente de beta-arrestinas (Morisco *et al.*, 2008).

É interessante ressaltar que a sinalização mediada por beta-arrestinas depende da afinidade entre esta e o receptor, sendo possível distinguir dois tipos. Os receptores de classe A que apresentam baixa afinidade pelas beta-arrestinas e, portanto, são reciclados rapidamente à membrana plasmática; e os receptores de Classe B, que permanecem associados às beta-arrestinas em vesículas de endocitose, favorecendo à transdução de sinal (Dewire *et al.*, 2007).

Assim, tanto mecanismos dependentes como independentes de proteína G deflagram a ativação de vias de sinalização específicas, diretamente envolvidas com a hipertrofia do cardiomiócito, sob diferentes condições experimentais.

Figura 5: Modelo proposto para ativação de MAPK/ERK_{1/2} mediante sinalização dependente de beta-arrestinas. A interação das beta-arrestinas e GPCR ativado promove o recrutamento de proteínas sinalizadoras da via MAPK/ERK, as quais formam um complexo através de sua ligação com as beta-arrestinas e vesículas de endocitose. A sinalização das beta-arrestinas tem sido associada à ativação de alvos citoplasmáticos de ERK, que neste caso, não é translocada para o núcleo. (Luttrell e Lefkowitz, 2002).

8 CONCLUSÕES

O presente estudo teve como objetivo avaliar a contribuição da sinalização dependente de beta-arrestinas na hipertrofia cardiomiocítica induzida por T3 e mediada pelo AT1R.

- Concluimos que o T3 promove a ativação transiente de ERK_{1/2}, a qual é parcialmente mediada pelo AT1R, e que esta ativação contribui com a hipertrofia cardiomiocítica
- Através dos ensaios de silenciamento gênico por RNA de interferência concluimos que a sinalização dependente de beta-arrestina 2 encontra-se envolvida com a ativação de ERK_{1/2} e com a hipertrofia cardiomiocítica promovidas pelo T3.
- A partir dos ensaios realizados com Concanavalina A, concluimos que o mecanismo de endocitose contribui para a ativação de ERK_{1/2} e para a hipertrofia cardiomiocítica promovidas pelo T3.
- Considerando os resultados dos experimentos de fracionamento e microscopia de fluorescência, concluimos que o T3 aumenta a expressão nuclear de AT1R, sugerindo sua translocação a partir da membrana plasmática. Ainda, o aumento da interação entre beta-arrestina 2 e AT1R, verificado através dos ensaios de imunoprecipitação, sugere o envolvimento da beta-arrestina 2 nesse processo.
- Apesar dos resultados aparentemente negativos obtidos dos experimentos de BRET, concluimos que o mecanismo através do qual o T3 exerce seus efeitos sobre o AT1R difere do mecanismo da AngII, ou seja, não envolve uma interação direta. Além disso, concluimos que a heterodimerização entre AT1R e os receptores AT2R, MAS e beta2-adrenérgico não apresenta relação com as ações

mediadas pelo T3. Os ensaios de *binding* para AngII atestam que o T3 não interfere na ligação da AngII no AT1R.

- Contudo, baseado nos resultados obtidos, contemplamos duas principais possibilidades para essa interação. A primeira delas consiste na ação autócrina da AngII, baseada no trabalho de Sadoshima e col. (Sadoshima *et al.*, 1993) que evidencia a presença de estoques intracelulares de AngII em cardiomiócitos. A segunda possibilidade, baseada nos achados de Tóth e col. (Tóth *et al.*, 2018), é da ativação heteróloga do AT1R como resultado de ações intracelulares do T3 (Figura 42).

Figura 6: Modelo proposto do mecanismo de ativação de MAPK/ERK através da sinalização dependente de beta-arrestinas na hipertrofia cardiomiocítica induzida por T3 via AT1R.

REFERÊNCIAS¹

ABDALLA, S. et al. The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist. **J Biol Chem**, v. 276, n. 43, p. 39721-6, Oct 2001. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11507095> >.

ABDALLA, S.; LOTHER, H.; QUITTERER, U. AT1-receptor heterodimers show enhanced G-protein activation and altered receptor sequestration. **Nature**, v. 407, n. 6800, p. 94-8, Sep 2000. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10993080> >.

AHN, S. et al. {beta}-Arrestin-2 Mediates Anti-apoptotic Signaling through Regulation of BAD Phosphorylation. **J Biol Chem**, v. 284, n. 13, p. 8855-65, Mar 2009. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19171933> >.

_____. Desensitization, internalization, and signaling functions of beta-arrestins demonstrated by RNA interference. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 4, p. 1740-4, Feb 2003. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12582207> >.

_____. Differential kinetic and spatial patterns of beta-arrestin and G protein-mediated ERK activation by the angiotensin II receptor. **J Biol Chem**, v. 279, n. 34, p. 35518-25, Aug 2004. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15205453> >.

_____. Reciprocal regulation of angiotensin receptor-activated extracellular signal-regulated kinases by beta-arrestins 1 and 2. **J Biol Chem**, v. 279, n. 9, p. 7807-11, Feb 2004. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14711824> >.

ALZAYADNEH, E. M.; CHAPPELL, M. C. Nuclear expression of renin-angiotensin system components in NRK-52E renal epithelial cells. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v. 16, n. 4, p. 1135-48, Dec 2015. ISSN 1752-8976. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24961503> >.

APLIN, M. et al. Differential extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 activation by the angiotensin type 1 receptor supports distinct phenotypes of cardiac myocytes. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 100, n. 5, p. 296-301, May 2007. ISSN 1742-7835. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17448114> >.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023)

ATTRAMADAL, H. et al. Beta-arrestin2, a novel member of the arrestin/beta-arrestin gene family. **J Biol Chem**, v. 267, n. 25, p. 17882-90, Sep 1992. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1517224> >.

BAKER, K. M. et al. Evidence of a novel intracrine mechanism in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. **Regul Pept**, v. 120, n. 1-3, p. 5-13, Aug 2004. ISSN 0167-0115. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15177915> >.

BALASUBRAMANIAN, S.; KUPPUSWAMY, D. RGD-containing peptides activate S6K1 through beta3 integrin in adult cardiac muscle cells. **J Biol Chem**, v. 278, n. 43, p. 42214-24, Oct 2003. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12909616> >.

BARKI-HARRINGTON, L.; LUTTRELL, L. M.; ROCKMAN, H. A. Dual inhibition of beta-adrenergic and angiotensin II receptors by a single antagonist: a functional role for receptor-receptor interaction in vivo. **Circulation**, v. 108, n. 13, p. 1611-8, Sep 2003. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12963634> >.

BARRETO-CHAVES, M. L.; HEIMANN, A.; KRIEGER, J. E. Stimulatory effect of dexamethasone on angiotensin-converting enzyme in neonatal rat cardiac myocytes. **Braz J Med Biol Res**, v. 33, n. 6, p. 661-4, Jun 2000. ISSN 0100-879X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10829094> >.

BERGH, J. J. et al. Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. **Endocrinology**, v. 146, n. 7, p. 2864-71, Jul 2005. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15802494> >.

BOCCALANDRO, C. et al. Severe reversible dilated cardiomyopathy and hyperthyroidism: case report and review of the literature. **Endocr Pract**, v. 9, n. 2, p. 140-6, 2003 Mar-Apr 2003. ISSN 1530-891X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12917077> >.

BOOZ, G. W. et al. Angiotensin-II-binding sites on hepatocyte nuclei. **Endocrinology**, v. 130, n. 6, p. 3641-9, Jun 1992. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1597161> >.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, May 1976. ISSN 0003-2697. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051> >.

BUENO, O. F. et al. The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice. **EMBO J**, v. 19, n. 23, p. 6341-50, Dec 2000. ISSN 0261-4189. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11101507> >.

BUENO, O. F.; MOLKENTIN, J. D. Involvement of extracellular signal-regulated kinases 1/2 in cardiac hypertrophy and cell death. **Circ Res**, v. 91, n. 9, p. 776-81, Nov 2002. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12411391> >.

CAHILL, T. J. et al. Distinct conformations of GPCR- β -arrestin complexes mediate desensitization, signaling, and endocytosis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 114, n. 10, p. 2562-2567, 03 2017. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28223524> >.

CARNEIRO-RAMOS, M. S. et al. Blockage of angiotensin II type 2 receptor prevents thyroxine-mediated cardiac hypertrophy by blocking Akt activation. **Basic Res Cardiol**, v. 105, n. 3, p. 325-35, May 2010. ISSN 1435-1803. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20155476> >.

CHATTERGOON, N. N. et al. Thyroid hormone drives fetal cardiomyocyte maturation. **FASEB J**, v. 26, n. 1, p. 397-408, Jan 2012. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21974928> >.

CINI, G. et al. Thyroid hormones and the cardiovascular system: pathophysiology and interventions. **Biomed Pharmacother**, v. 63, n. 10, p. 742-53, Dec 2009. ISSN 1950-6007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19917524> >.

DA SILVA, I. B. et al. Cardioprotective effect of thyroid hormone is mediated by AT₂ receptor and involves nitric oxide production via Akt activation in mice. **Heart Vessels**, v. 33, n. 6, p. 671-681, Jun 2018. ISSN 1615-2573. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29218410> >.

DAHL, P.; DANZI, S.; KLEIN, I. Thyrotoxic cardiac disease. **Curr Heart Fail Rep**, v. 5, n. 3, p. 170-6, Sep 2008. ISSN 1546-9549. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752767> >.

DANSER, A. H. Local renin-angiotensin systems. **Mol Cell Biochem**, v. 157, n. 1-2, p. 211-6, 1996 Apr 12-26 1996. ISSN 0300-8177. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8739248> >.

DAS, M.; GHOSH, M.; DAS, S. Thyroid Hormone-Induced Differentiation of Astrocytes is Associated with Transcriptional Upregulation of β -arrestin-1 and β -adrenergic Receptor-Mediated Endosomal Signaling. **Mol Neurobiol**, v. 53, n. 8, p. 5178-90, 10 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26399643> >.

DAVIS, P. J.; DAVIS, F. B. Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart. **Thyroid**, v. 12, n. 6, p. 459-66, Jun 2002. ISSN 1050-7256. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12165107> >.

DAVIS, P. J.; GOGLIA, F.; LEONARD, J. L. Nongenomic actions of thyroid hormone. **Nat Rev Endocrinol**, v. 12, n. 2, p. 111-21, Feb 2016. ISSN 1759-5037. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26668118> >.

DAVIS, P. J.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. **Front Neuroendocrinol**, v. 29, n. 2, p. 211-8, May 2008. ISSN 1095-6808. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17983645> >.

DEPRE, C. et al. Activation of the cardiac proteasome during pressure overload promotes ventricular hypertrophy. **Circulation**, v. 114, n. 17, p. 1821-8, Oct 2006. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17043166> >.

DEWIRE, S. M. et al. Beta-arrestins and cell signaling. **Annu Rev Physiol**, v. 69, p. 483-510, 2007. ISSN 0066-4278. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17305471> >.

DILLMANN, W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. **Heart Fail Rev**, v. 15, n. 2, p. 125-32, Mar 2010. ISSN 1573-7322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19125327> >.

DILLMANN, W. H. Cellular action of thyroid hormone on the heart. **Thyroid**, v. 12, n. 6, p. 447-52, Jun 2002. ISSN 1050-7256. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12165105> >.

DINIZ, G. P.; CARNEIRO-RAMOS, M. S.; BARRETO-CHAVES, M. L. Angiotensin type 1 (AT1) and type 2 (AT2) receptors mediate the increase in TGF-beta1 in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. **Pflugers Arch**, v. 454, n. 1, p. 75-81, Apr 2007. ISSN 0031-6768. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17206447> >.

_____. Angiotensin type 1 receptor mediates thyroid hormone-induced cardiomyocyte hypertrophy through the Akt/GSK-3beta/mTOR signaling pathway. **Basic Res Cardiol**, v. 104, n. 6, p. 653-67, Nov 2009. ISSN 1435-1803. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19588183> >.

DORN, G. W. The fuzzy logic of physiological cardiac hypertrophy. **Hypertension**, v. 49, n. 5, p. 962-70, May 2007. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17389260> >.

DZAU, V. J. Cardiac renin-angiotensin system. Molecular and functional aspects. **Am J Med**, v. 84, n. 3A, p. 22-7, Mar 1988. ISSN 0002-9343. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3218653> >.

DÖRR, M. et al. The association of thyroid function with cardiac mass and left ventricular hypertrophy. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 2, p. 673-7, Feb 2005. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15522926> >.

EBLE, D. M. et al. Contractile activity is required for sarcomeric assembly in phenylephrine-induced cardiac myocyte hypertrophy. **Am J Physiol**, v. 274, n. 5 Pt 1, p. C1226-37, May 1998. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9612209> >.

EGHBALI, M. et al. Molecular and functional signature of heart hypertrophy during pregnancy. **Circ Res**, v. 96, n. 11, p. 1208-16, Jun 2005. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15905459> >.

EHLER, E. Cardiac cytoarchitecture - why the "hardware" is important for heart function! **Biochim Biophys Acta**, v. 1863, n. 7 Pt B, p. 1857-63, Jul 2016. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26577135> >.

ERB, L. et al. An RGD sequence in the P2Y(2) receptor interacts with alpha(V)beta(3) integrins and is required for G(o)-mediated signal transduction. **J Cell Biol**, v. 153, n. 3, p. 491-501, Apr 2001. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11331301> >.

ESPOSITO, G. et al. EGFR trans-activation by urotensin II receptor is mediated by β -arrestin recruitment and confers cardioprotection in pressure overload-induced cardiac hypertrophy. **Basic Res Cardiol**, v. 106, n. 4, p. 577-89, Jun 2011. ISSN 1435-1803. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21369867> >.

FAZIO, S. et al. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. **Recent Prog Horm Res**, v. 59, p. 31-50, 2004. ISSN 0079-9963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14749496> >.

FERGUSON, S. S. et al. Role of phosphorylation in agonist-promoted beta 2-adrenergic receptor sequestration. Rescue of a sequestration-defective mutant receptor by beta ARK1. **J Biol Chem**, v. 270, n. 42, p. 24782-9, Oct 1995. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7559596> >.

GALANDRIN, S. et al. Cardioprotective Angiotensin-(1-7) Peptide Acts as a Natural-Biased Ligand at the Angiotensin II Type 1 Receptor. **Hypertension**, v. 68, n. 6, p. 1365-1374, 12 2016. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27698068> >.

GIBB, A. A.; HILL, B. G. Metabolic Coordination of Physiological and Pathological Cardiac Remodeling. **Circ Res**, v. 123, n. 1, p. 107-128, Jun 2018. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29929976> >.

GOODMAN, O. B. et al. Beta-arrestin acts as a clathrin adaptor in endocytosis of the beta2-adrenergic receptor. **Nature**, v. 383, n. 6599, p. 447-50, Oct 1996. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8837779> >.

GUO, S. et al. Selectivity of commonly used inhibitors of clathrin-mediated and caveolae-dependent endocytosis of G protein-coupled receptors. **Biochim Biophys Acta**, v. 1848, n. 10 Pt A, p. 2101-10, Oct 2015. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26055893> >.

GWATHMEY, T. M. et al. Novel roles of nuclear angiotensin receptors and signaling mechanisms. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 302, n. 5, p. R518-30, Mar 2012. ISSN 1522-1490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22170620> >.

HAQUE, Z. K.; WANG, D. Z. How cardiomyocytes sense pathophysiological stresses for cardiac remodeling. **Cell Mol Life Sci**, v. 74, n. 6, p. 983-1000, Mar 2017. ISSN 1420-9071. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27714411> >.

HE, L.; CHEN, L.; LI, L. The mechanosensitive APJ internalization via clathrin-mediated endocytosis: A new molecular mechanism of cardiac hypertrophy. **Med Hypotheses**, v. 90, p. 6-10, May 2016. ISSN 1532-2777. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27063076> >.

HILL, J. A.; OLSON, E. N. Cardiac plasticity. **N Engl J Med**, v. 358, n. 13, p. 1370-80, Mar 2008. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18367740> >.

HONG, K. et al. Mechanical activation of angiotensin II type 1 receptors causes actin remodelling and myogenic responsiveness in skeletal muscle arterioles. **J Physiol**, v. 594, n. 23, p. 7027-7047, 12 2016. ISSN 1469-7793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27531064> >.

HU, L. W. et al. Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: influence of adrenergic nervous system versus renin-angiotensin system on myocyte remodeling. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 285, n. 6, p. R1473-80, Dec 2003. ISSN 0363-6119. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12933361> >.

HU, L. W.; LIBERTI, E. A.; BARRETO-CHAVES, M. L. Myocardial ultrastructure in cardiac hypertrophy induced by thyroid hormone--an acute study in rats. **Virchows Arch**, v. 446, n. 3, p. 265-9, Mar 2005. ISSN 0945-6317. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15668802> >.

HUNYADY, L. et al. Mechanisms and functions of AT(1) angiotensin receptor internalization. **Regul Pept**, v. 91, n. 1-3, p. 29-44, Jul 2000. ISSN 0167-0115. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10967200> >.

KAHALY, G. J.; DILLMANN, W. H. Thyroid hormone action in the heart. **Endocr Rev**, v. 26, n. 5, p. 704-28, Aug 2005. ISSN 0163-769X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15632316> >.

KALYANARAMAN, H. et al. Nongenomic thyroid hormone signaling occurs through a plasma membrane-localized receptor. **Sci Signal**, v. 7, n. 326, p. ra48, May 2014. ISSN 1937-9145. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24847117> >.

KANG, J. et al. A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. **Cell**, v. 123, n. 5, p. 833-47, Dec 2005. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16325578> >.

KENESSEY, A.; OJAMAA, K. Thyroid hormone stimulates protein synthesis in the cardiomyocyte by activating the Akt-mTOR and p70S6K pathways. **J Biol Chem**, v. 281, n. 30, p. 20666-72, Jul 2006. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16717100> >.

KIM, J. et al. Functional antagonism of different G protein-coupled receptor kinases for beta-arrestin-mediated angiotensin II receptor signaling. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 5, p. 1442-7, Feb 2005. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15671181> >.

KIM, K. S. et al. β -Arrestin-biased AT1R stimulation promotes cell survival during acute cardiac injury. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 303, n. 8, p. H1001-10, Oct 2012. ISSN 1522-1539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22886417> >.

KLEIN, I.; DANZI, S. Thyroid disease and the heart. **Circulation**, v. 116, n. 15, p. 1725-35, Oct 2007. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17923583> >.

KLEIN, I.; OJAMAA, K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. **N Engl J Med**, v. 344, n. 7, p. 501-9, Feb 2001. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11172193> >.

KOBAYASHI, H. et al. Beta-arrestin2 enhances beta2-adrenergic receptor-mediated nuclear translocation of ERK. **Cell Signal**, v. 17, n. 10, p. 1248-53, Oct 2005. ISSN 0898-6568. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16038799> >.

KOBORI, H. et al. Local renin-angiotensin system contributes to hyperthyroidism-induced cardiac hypertrophy. **J Endocrinol**, v. 160, n. 1, p. 43-7, Jan 1999. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9854175> >.

_____. Role of the renin-angiotensin system in cardiac hypertrophy induced in rats by hyperthyroidism. **Am J Physiol**, v. 273, n. 2 Pt 2, p. H593-9, Aug 1997. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9277473> >.

KOSTENIS, E. et al. G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. **Circulation**, v. 111, n. 14, p. 1806-13, Apr 2005. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15809376> >.

KRUPNICK, J. G.; BENOVIC, J. L. The role of receptor kinases and arrestins in G protein-coupled receptor regulation. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 38, p. 289-319, 1998. ISSN 0362-1642. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9597157> >.

KUMAR, R. et al. The intracrine renin-angiotensin system. **Clin Sci (Lond)**, v. 123, n. 5, p. 273-84, Sep 2012. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22590974> >.

LEITINGER, B.; HOGG, N. The involvement of lipid rafts in the regulation of integrin function. **J Cell Sci**, v. 115, n. Pt 5, p. 963-72, Mar 2002. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11870215> >.

LEVY, D. et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **N Engl J Med**, v. 322, n. 22, p. 1561-6, May 1990. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2139921> >.

LI, A.; ZHU, X.; CRAFT, C. M. Retinoic acid upregulates cone arrestin expression in retinoblastoma cells through a Cis element in the distal promoter region. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 43, n. 5, p. 1375-83, May 2002. ISSN 0146-0404. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11980849> >.

LI, N. et al. Activation of the cardiac proteasome promotes angiotensin II-induced hypertrophy by down-regulation of ATRAP. **J Mol Cell Cardiol**, v. 79, p. 303-14, Feb 2015. ISSN 1095-8584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25526681> >.

LI, X. C.; ZHUO, J. L. Intracellular ANG II directly induces in vitro transcription of TGF-beta1, MCP-1, and NHE-3 mRNAs in isolated rat renal cortical nuclei via activation of nuclear AT1a receptors. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 294, n. 4, p. C1034-45, Apr 2008. ISSN 0363-6143. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18256274> >.

LIN, H. Y. et al. Thyroid hormone induces activation of mitogen-activated protein kinase in cultured cells. **Am J Physiol**, v. 276, n. 5 Pt 1, p. C1014-24, May 1999. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10329948> >.

LIU, Y. et al. Thyroid hormone analog 3,5-diiodothyropropionic acid promotes healthy vasculature in the adult myocardium independent of thyroid effects on cardiac function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 296, n. 5, p. H1551-7, May 2009. ISSN 0363-6135. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19286941> >.

LORENZ, K. et al. A new type of ERK1/2 autophosphorylation causes cardiac hypertrophy. **Nat Med**, v. 15, n. 1, p. 75-83, Jan 2009. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19060905> >.

_____. Cardiac hypertrophy: targeting Raf/MEK/ERK1/2-signaling. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 41, n. 12, p. 2351-5, Dec 2009. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19666137> >.

LOU, J. et al. Type III Transforming Growth Factor- β Receptor Drives Cardiac Hypertrophy Through β -Arrestin2-Dependent Activation of Calmodulin-Dependent Protein Kinase II. **Hypertension**, v. 68, n. 3, p. 654-66, 09 2016. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27432858> >.

LUTTRELL, L. M. et al. G protein-coupled receptors mediate two functionally distinct pathways of tyrosine phosphorylation in rat 1a fibroblasts. Shc phosphorylation and receptor endocytosis correlate with activation of Erk kinases. **J Biol Chem**, v. 272, n. 50, p. 31648-56, Dec 1997. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9395506> >.

LUTTRELL, L. M.; LEFKOWITZ, R. J. The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. **J Cell Sci**, v. 115, n. Pt 3, p. 455-65, Feb 2002. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861753> >.

LUTTRELL, L. M. et al. Activation and targeting of extracellular signal-regulated kinases by beta-arrestin scaffolds. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 5, p. 2449-54, Feb 2001. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11226259> >.

LYON, R. C. et al. Mechanotransduction in cardiac hypertrophy and failure. **Circ Res**, v. 116, n. 8, p. 1462-1476, Apr 2015. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25858069> >.

LYU, L. et al. A critical role of cardiac fibroblast-derived exosomes in activating renin angiotensin system in cardiomyocytes. **J Mol Cell Cardiol**, v. 89, n. Pt B, p. 268-79, Dec 2015. ISSN 1095-8584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26497614> >.

MAUDSLEY, S. et al. The beta(2)-adrenergic receptor mediates extracellular signal-regulated kinase activation via assembly of a multi-receptor complex with the epidermal growth factor receptor. **J Biol Chem**, v. 275, n. 13, p. 9572-80, Mar 2000. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10734107> >.

MONASKY, M. M. et al. The β -arrestin-biased ligand TRV120023 inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy while preserving enhanced myofilament response to calcium. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 305, n. 6, p. H856-66, Sep 2013. ISSN 1522-1539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23873795> >.

MORISCO, C. et al. Endocytosis machinery is required for beta1-adrenergic receptor-induced hypertrophy in neonatal rat cardiac myocytes. **Cardiovasc Res**, v. 78, n. 1, p. 36-44, Apr 2008. ISSN 0008-6363. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18194989> >.

MUSLIN, A. J. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets. **Clin Sci (Lond)**, v. 115, n. 7, p. 203-18, Oct 2008. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752467> >.

MUTLAK, M.; KEHAT, I. Extracellular signal-regulated kinases 1/2 as regulators of cardiac hypertrophy. **Front Pharmacol**, v. 6, p. 149, 2015. ISSN 1663-9812. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26257652> >.

NAKAMURA, M.; SADOSHIMA, J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Nat Rev Cardiol**, v. 15, n. 7, p. 387-407, Jul 2018. ISSN 1759-5010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29674714> >.

NEUHAUS, E. M. et al. Novel function of beta-arrestin2 in the nucleus of mature spermatozoa. **J Cell Sci**, v. 119, n. Pt 15, p. 3047-56, Aug 2006. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16820410> >.

NOMA, T. et al. Beta-arrestin-mediated beta1-adrenergic receptor transactivation of the EGFR confers cardioprotection. **J Clin Invest**, v. 117, n. 9, p. 2445-58, Sep 2007. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17786238> >.

O'NEAL, P. et al. Experimental hyperthyroidism in rats increases the expression of the ubiquitin ligases atrogin-1 and MuRF1 and stimulates multiple proteolytic pathways in skeletal muscle. **J Cell Biochem**, v. 108, n. 4, p. 963-73, Nov 2009. ISSN 1097-4644. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19777444> >.

OAKLEY, R. H. et al. Differential affinities of visual arrestin, beta arrestin1, and beta arrestin2 for G protein-coupled receptors delineate two major classes of receptors. **J Biol Chem**, v. 275, n. 22, p. 17201-10, Jun 2000. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10748214> >.

OJAMAA, K. Signaling mechanisms in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. **Vascul Pharmacol**, v. 52, n. 3-4, p. 113-9, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1879-3649. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20005976> >.

PENDERGRASS, K. D. et al. Differential expression of nuclear AT1 receptors and angiotensin II within the kidney of the male congenic mRen2. Lewis rat. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, n. 6, p. F1497-506, Jun 2006. ISSN 1931-857X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16403834> >.

PERRINO, C. et al. Intermittent pressure overload triggers hypertrophy-independent cardiac dysfunction and vascular rarefaction. **J Clin Invest**, v. 116, n. 6, p. 1547-60, Jun 2006. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16741575> >.

PITCHER, J. A.; FREEDMAN, N. J.; LEFKOWITZ, R. J. G protein-coupled receptor kinases. **Annu Rev Biochem**, v. 67, p. 653-92, 1998. ISSN 0066-4154. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9759500> >.

PIU, F.; GAUTHIER, N. K.; WANG, F. Beta-arrestin 2 modulates the activity of nuclear receptor RAR beta2 through activation of ERK2 kinase. **Oncogene**, v. 25, n. 2, p. 218-29, Jan 2006. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16170358> >.

POWELL, S. R. et al. The ubiquitin-proteasome system and cardiovascular disease. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 109, p. 295-346, 2012. ISSN 1878-0814. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22727426> >.

PREMONT, R. T.; GAINETDINOV, R. R. Physiological roles of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. **Annu Rev Physiol**, v. 69, p. 511-34, 2007. ISSN 0066-4278. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17305472> >.

QI, M. et al. Myosin heavy chain gene expression in neonatal rat heart cells: effects of $[Ca^{2+}]_i$ and contractile activity. **Am J Physiol**, v. 273, n. 2 Pt 1, p. C394-403, Aug 1997. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9277337> >.

RAJAGOPAL, K. et al. Beta-arrestin2-mediated inotropic effects of the angiotensin II type 1A receptor in isolated cardiac myocytes. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 44, p. 16284-9, Oct 2006. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17060617> >.

RAKESH, K. et al. beta-Arrestin-biased agonism of the angiotensin receptor induced by mechanical stress. **Sci Signal**, v. 3, n. 125, p. ra46, Jun 2010. ISSN 1937-9145. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20530803> >.

RAZVI, S. et al. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases. **J Am Coll Cardiol**, v. 71, n. 16, p. 1781-1796, Apr 2018. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29673469> >.

REN, X. R. et al. Different G protein-coupled receptor kinases govern G protein and beta-arrestin-mediated signaling of V2 vasopressin receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 5, p. 1448-53, Feb 2005. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15671180> >.

ROBERTSON, A. L.; KHAIRALLAH, P. A. Angiotensin II: rapid localization in nuclei of smooth and cardiac muscle. **Science**, v. 172, n. 3988, p. 1138-9, Jun 1971. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4324923> >.

ROSE, B. A.; FORCE, T.; WANG, Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. **Physiol Rev**, v. 90, n. 4, p. 1507-46, Oct 2010. ISSN 1522-1210. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20959622> >.

RUPPERT, C. et al. Interference with ERK(Thr188) phosphorylation impairs pathological but not physiological cardiac hypertrophy. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 18, p. 7440-5, Apr 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23589880> >.

RYBIN, V.; STEINBERG, S. F. Thyroid hormone represses protein kinase C isoform expression and activity in rat cardiac myocytes. **Circ Res**, v. 79, n. 3, p. 388-98, Sep 1996. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8781472> >.

SADOSHIMA, J. et al. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. **Cell**, v. 75, n. 5, p. 977-84, Dec 1993. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8252633> >.

SANTOS, G. A. et al. Comparative analyses of downstream signal transduction targets modulated after activation of the AT1 receptor by two β -arrestin-biased agonists. **Front Pharmacol**, v. 6, p. 131, 2015. ISSN 1663-9812. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26191004> >.

SCIMIA, M. C. et al. APJ acts as a dual receptor in cardiac hypertrophy. **Nature**, v. 488, n. 7411, p. 394-8, Aug 2012. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22810587> >.

SEGAL, J. et al. Acute effect of thyroid hormone in the rat heart: role of calcium. **J Endocrinol**, v. 149, n. 1, p. 73-80, Apr 1996. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8676057> >.

SELMI, S.; SAMUELS, H. H. Thyroid hormone receptor/and v-erbA. A single amino acid difference in the C-terminal region influences dominant negative activity and receptor dimer formation. **J Biol Chem**, v. 266, n. 18, p. 11589-93, Jun 1991. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1675637> >.

SIU, C. W. et al. Incidence, clinical characteristics and outcome of congestive heart failure as the initial presentation in patients with primary hyperthyroidism. **Heart**, v. 93, n. 4, p. 483-7, Apr 2007. ISSN 1468-201X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17005710> >.

SMITH, J.; YU, R.; HINKLE, P. M. Activation of MAPK by TRH requires clathrin-dependent endocytosis and PKC but not receptor interaction with beta-arrestin or receptor endocytosis. **Mol Endocrinol**, v. 15, n. 9, p. 1539-48, Sep 2001. ISSN 0888-8809. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11518803> >.

SMITH, J. S.; RAJAGOPAL, S. The β -Arrestins: Multifunctional Regulators of G Protein-coupled Receptors. **J Biol Chem**, v. 291, n. 17, p. 8969-77, Apr 2016. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26984408> >.

SORKIN, A.; VON ZASTROW, M. Endocytosis and signalling: intertwining molecular networks. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 10, n. 9, p. 609-22, Sep 2009. ISSN 1471-0080. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19696798> >.

SUGDEN, P. H.; CLERK, A. "Stress-responsive" mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium. **Circ Res**, v. 83, n. 4, p. 345-52, Aug 1998. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9721691> >.

TADEVOSYAN, A. et al. Nuclear-delimited angiotensin receptor-mediated signaling regulates cardiomyocyte gene expression. **J Biol Chem**, v. 285, n. 29, p. 22338-49, Jul 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20463030> >.

_____. G protein-coupled receptor signalling in the cardiac nuclear membrane: evidence and possible roles in physiological and pathophysiological function. **J Physiol**, v. 590, n. 6, p. 1313-30, Mar 2012. ISSN 1469-7793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22183719> >.

_____. Intracellular Angiotensin-II Interacts With Nuclear Angiotensin Receptors in Cardiac Fibroblasts and Regulates RNA Synthesis, Cell Proliferation, and Collagen Secretion. **J Am Heart Assoc**, v. 6, n. 4, Apr 2017. ISSN 2047-9980. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28381466> >.

TAKANO, A. P.; DINIZ, G. P.; BARRETO-CHAVES, M. L. AMPK signaling pathway is rapidly activated by T3 and regulates the cardiomyocyte growth. **Mol Cell Endocrinol**, v. 376, n. 1-2, p. 43-50, Aug 2013. ISSN 1872-8057. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23748029> >.

TAKANO, A. P. C. et al. AT1 receptor blockage impairs NF- κ B activation mediated by thyroid hormone in cardiomyocytes. **Pflugers Arch**, v. 470, n. 3, p. 549-558, Mar 2018. ISSN 1432-2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29178049> >.

TAVARES, F. M. et al. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) is associated with increased tolerance of the hyperthyroid heart to ischemia-reperfusion. **Cardiovasc Drugs Ther**, v. 27, n. 5, p. 393-402, Oct 2013. ISSN 1573-7241. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23807455> >.

TEIXEIRA, L. B. et al. Ang-(1-7) is an endogenous β -arrestin-biased agonist of the AT. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 11903, Sep 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28928410> >.

TEOH, C. M.; TAM, J. K.; TRAN, T. Integrin and GPCR Crosstalk in the Regulation of ASM Contraction Signaling in Asthma. **J Allergy (Cairo)**, v. 2012, p. 341282, 2012. ISSN 1687-9791. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23056062> >.

TILLEY, D. G. G protein-dependent and G protein-independent signaling pathways and their impact on cardiac function. **Circ Res**, v. 109, n. 2, p. 217-30, Jul 2011. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21737817> >.

TOHGO, A. et al. beta-Arrestin scaffolding of the ERK cascade enhances cytosolic ERK activity but inhibits ERK-mediated transcription following angiotensin AT1a receptor stimulation. **J Biol Chem**, v. 277, n. 11, p. 9429-36, Mar 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11777902> >.

TOMANEK, R. J.; BUSCH, T. L. Coordinated capillary and myocardial growth in response to thyroxine treatment. **Anat Rec**, v. 251, n. 1, p. 44-9, May 1998. ISSN 0003-276X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9605219> >.

TÓTH, A. D. et al. Heterologous phosphorylation-induced formation of a stability lock permits regulation of inactive receptors by β -arrestins. **J Biol Chem**, v. 293, n. 3, p. 876-892, Jan 2018. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29146594> >.

VARGAS, F. et al. The renin-angiotensin system in thyroid disorders and its role in cardiovascular and renal manifestations. **J Endocrinol**, v. 213, n. 1, p. 25-36, Apr 2012. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22043064> >.

WANG, B.; OUYANG, J.; XIA, Z. Effects of triiodo-thyronine on angiotensin-induced cardiomyocyte hypertrophy: reversal of increased beta-myosin heavy chain gene expression. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 84, n. 8-9, p. 935-41, 2006 Aug-Sep 2006. ISSN 0008-4212. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17111039> >.

WU, G. et al. Increased myocardial Rab GTPase expression: a consequence and cause of cardiomyopathy. **Circ Res**, v. 89, n. 12, p. 1130-7, Dec 2001. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739277> >.

XIAO, K. et al. Functional specialization of beta-arrestin interactions revealed by proteomic analysis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 29, p. 12011-6, Jul 2007. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620599> >.

ZHAI, P. et al. An angiotensin II type 1 receptor mutant lacking epidermal growth factor receptor transactivation does not induce angiotensin II-mediated cardiac hypertrophy. **Circ Res**, v. 99, n. 5, p. 528-36, Sep 2006. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16902180> >.

_____. Cardiac-specific overexpression of AT1 receptor mutant lacking G alpha q/G alpha i coupling causes hypertrophy and bradycardia in transgenic mice. **J Clin Invest**, v. 115, n. 11, p. 3045-56, Nov 2005. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16276415> >.

ZHANG, J.; LAZAR, M. A. The mechanism of action of thyroid hormones. **Annu Rev Physiol**, v. 62, p. 439-66, 2000. ISSN 0066-4278. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10845098> >.

ZOU, Y. et al. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II. **Nat Cell Biol**, v. 6, n. 6, p. 499-506, Jun 2004. ISSN 1465-7392. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15146194> >.