

Receptores acoplados a proteínas G (GPCR): activación, señalización y regulación

G protein coupled receptors (GPCR): Activation, signaling and regulation

CYNDI G. HERNÁNDEZ-CORONADO¹, ADRIÁN GUZMÁN¹, DAVID GONZÁLEZ-ARETIA¹, ZAIRE B. MEDINA-MOCTEZUMA¹, CARLOS G. GUTIÉRREZ² Y ANA MA. ROSALES-TORRES^{1*}

¹Departamento de Producción Agrícola y Animal, Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco;

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México

RESUMEN

Un receptor de siete dominios transmembrana (GPCR) al asociarse con una proteína G (Gs, Gi, Gq y G12/13) desencadena la transducción de señales extracelulares a componentes de señalización intracelular e intercelular para regular respuestas fisiológicas. Las células tienen mecanismos regulados que activan o evitan la señalización de los GPCR ya sea de forma transitoria, durante un periodo de tiempo prolongado o de forma definitiva para mantener la fisiología normal de una célula, tejido u órgano. Existen una gran variedad de ligandos que llevan a cabo sus funciones a través de los GPCR y debido a la gran versatilidad y complejidad funcional de estos receptores han sido de gran interés en la industria farmacéutica en áreas como la inmunología, la neurología, la endocrinología y la cardiología, entre otras. Por lo tanto, los GPCR son blancos importantes para el diseño de fármacos que ayuden a regular la fisiología de diferentes sistemas dentro del organismo. Comprender los mecanismos de señalización y cómo se regula la acción de estos receptores es fundamental para entender a cabalidad los procesos que se desencadenan como respuesta biológica. Por lo que con esta revisión nos propusimos realizar un compendio de la información que existe al respecto, analizarla y darle secuencia de tal manera que facilite al lector su comprensión de la biología de los GPCR.

Palabras clave: GPCR. Proteínas G. Señalización. Desensibilización. Internalización.

ABSTRACT

A seven-domain transmembrane receptor (GPCR) when associated with a heterotrimeric G protein (Gs, Gi, Gq, and G12 / 13) will trigger extracellular signal transduction to intracellular and intercellular signaling components for various regular physiological responses. Cells have tightly regulated mechanisms that activate or prevent GPCR signaling either transiently, for a prolonged period or permanently to maintain the normal physiology of a cell, tissue, or organ. There are many ligands that carry out their functions through GPCRs and due to the great versatility and functional complexity that these receptors possess, they have been of great interest in the pharmaceutical industry, mainly in immunology, neurology, endocrinology, cardiology, etc, therefore, are important targets for drug design in various physiological and pathological conditions. Understanding the signaling mechanisms and the way in which the action of these receptors is regulated is essential to fully understand the processes that are triggered as a biological response. Therefore, with this review, we set out to make a detailed compendium of the information that exists in this regard, analyze it and sequence it in such a way that it facilitates the reader's understanding.

Keywords: GPCR. G proteins. Signaling. Desensitization. Internalization.

Correspondencia:

*Ana Ma. Rosales-Torres
E-mail: anamexico@gmail.com

Fecha de recepción: 13-08-2021
Fecha de aceptación: 29-10-2021
DOI: 10.24875/RME.21000052

Disponible en internet: 01-09-2022
Rev Mex Endocrinol Metab Nutr. 2022;9:137-151

2462-4144 / © 2021 Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, AC. Publicado por Permalyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) son una de las familias más grandes de receptores de membrana responsables de la transducción de señales. Son denominados así porque ejercen su acción principalmente asociándose a una familia de proteínas heterotriméricas llamadas «proteínas G», sin embargo, se conoce que no es el único mecanismo por el cual pueden actuar¹. Los GPCR son proteínas integrales o también llamadas transmembrana que son activados por una amplia variedad de ligandos con la finalidad de modificar la función celular¹⁻⁴. Moléculas de señalización tales como hormonas, neurotransmisores, péptidos pequeños, lípidos, fotones, pueden unirse a los GPCR y controlar diversos procesos como la diferenciación, supervivencia, migración y proliferación celular³.

La transmisión de la señal en el interior de las células ocurre principalmente por la interacción de los GPCR con proteínas G heterotriméricas. Las proteínas G heterotriméricas están formadas por tres diferentes subunidades (α , β y γ) y los tipos de proteínas G se nombran con base en la similitud, localización y funcionalidad de la subunidad α . Generalmente, las proteínas $G\alpha$ se agrupan dentro de cuatro familias: $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ y $G\alpha_{12/13}$ ⁵. La afinidad y selectividad de los GPCR por las proteínas G de estas familias es lo que renombrará a cada receptor, es decir, receptor acoplado a proteínas Gs, Gi, Gq o G12/13. Es importante mencionar que a pesar de la semejanza estructural de las proteínas G, la señalización celular que desencadenará cada una será distinta¹.

Las células tienen mecanismos estrictamente regulados que evitan o desensibilizan la señalización de los GPCR ya sea de forma transitoria o durante un periodo de tiempo prolongado para mantener la fisiología normal del tejido u órgano⁶.

Estos receptores poseen complejidad funcional y regulan las funciones fisiológicas endocrinas, como por ejemplo, la síntesis de aldosterona y cortisol en células de la corteza adrenal, la organización de yoduro en el folículo tiroideo y la síntesis de hormonas adenohipofisarias; funciones cardíacas, como la activación cardíaca simpática y la regulación de los

canales de Ca^{2+} tipo L cardíacos, funciones inmunitarias, como la regulación de las células inmunitarias, activación plaquetaria inducida por quimiocinas y migración de linfocitos, entre otras; y funciones patológicas, como en enfermedades inmunológicas, cardiovasculares, metabólicas, neurodegenerativas, psiquiátricas y oncológicas. Esto convierte a esta familia de receptores en el blanco terapéutico más importante de la industria farmacéutica, por lo que es importante conocer a detalle su biología. Así, en esta revisión analizaremos la estructura de los GPCR, las proteínas G, así como la base estructural y molecular de su acoplamiento, la señalización celular y la regulación de estos receptores.

RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

La transducción de señales a través de los GPCR es fundamental para la mayoría de los procesos fisiológicos, incluyendo la visión, el olfato y el gusto, funciones neurológicas más complejas como la memoria, función cardiovascular, endocrina y reproductivas entre otras⁷ (Tabla 1). Por esta razón los GPCR son objetivo importante para la intervención terapéutica⁷. En mamíferos, la superfamilia de los GPCR representa del 1-5% de las proteínas de señalización de superficie celular con aproximadamente 800-900 genes identificados^{2,8-10}. La superfamilia de los GPCR se divide en diversas subfamilias de acuerdo con su similitud y diferencias estructurales^{3,4}. El sistema GRAFF se aplica específicamente a los vertebrados y clasifica a los GPCR en cinco categorías o subfamilias (Tabla 1): rodopsina (701 miembros), adhesión (33 miembros), glutamato (22 miembros), secretina (15 miembros) y *frizzled/smoothened* (11 miembros)⁴.

Estructura

Los miembros de la familia GPCR muestran una arquitectura molecular común que consiste en siete dominios/hélices transmembrana (DMT) conectados por tres asas o bucles extracelulares (1, 2 y 3) y una octava hélice (H8) localizada paralela a la membrana plasmática^{3,8} (Fig. 1). El dominio amino-terminal de estos receptores se localiza en el espacio

Tabla 1. Clasificación de los receptores acoplados a proteínas G en vertebrados, ejemplos y principales funciones

Subfamilia	Ejemplos	Funciones biológicas
Rodopsina	Receptores de hormonas glucoproteicas como la foliculoestimulante, luteinizante y estimulante de la tiroides, receptores adrenérgicos, de angiotensina, cannabinoides, quimiocinas, de histamina, receptores muscarínicos de acetilcolina, opioides, receptores olfatorios, etc.	Funciones reproductivas, síntesis de hormonas, endocrinas, metabólicas, señalización de neurotransmisores y aminas biogénicas, funciones inmunitarias, cardiovasculares, funciones de los sentidos como visión y olfato, entre muchas otras
Adhesión	Latrofilinas y receptor 2 de tipo G de siete pasos de cadherina EGF LAG	Funciones inmunitarias, desarrollo del sistema nervioso central, embrionario, entre otras
Glutamato	Receptores metabotrópicos de glutamato, receptor GABA _B , receptor de gusto tipo 1	Funciones neurobiológicas, gustativas (sabor dulce y salado)
Secretina	Receptor de glucagón, del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, de la hormona liberadora de hormona del crecimiento, receptor de la hormona paratiroidea	Funciones metabólicas y endocrinas
Frizzled/ smoothed	Receptores <i>frizzled</i> que incluyen al receptor <i>smoothed</i> (SMO) y 10 <i>frizzled</i> (FZD)	Señalización en el desarrollo embrionario para la diferenciación celular y regulación de la homeostasis de los tejidos

EGF: epidermal growth factor; LAG: laminin G; GABA: ácido γ-aminobutírico.
Adaptada de Bauer, 2020⁴.

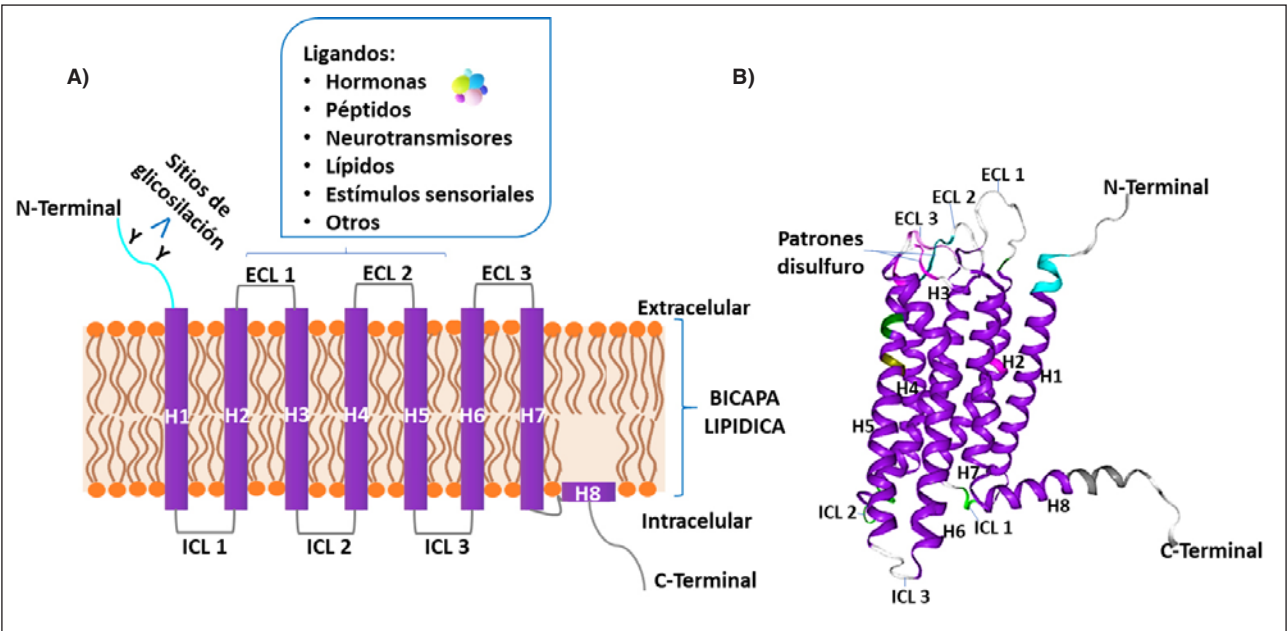


Figura 1. Representación esquemática de los receptores acoplados a proteína G (GPCR). A: modelo 2D de un GPCR. B: estructura por cristalografía de un GPCR (obtenida y modificada de GPCRdb).

extracelular y contiene sitios de glucosilación importantes en la síntesis y tráfico intracelular del receptor¹². Además, estos sitios de glucosilación del dominio amino-terminal junto con las asas extracelulares son responsables del reconocimiento y modulación de la interacción de algunos receptores

con su ligando¹². El dominio carboxilo-terminal consta de secuencias consenso de fosforilación y sitios de palmitoilación por cisteínas reactivas, se localiza en el espacio intracelular y participa en la interacción del receptor con las proteínas G y otras moléculas^{8,10}.

Los DMT forman el núcleo estructural, que permite la unión de ligandos y transduce señales extracelulares a la región intracelular por medio de cambios conformacionales del receptor⁶. Las variaciones más sorprendentes entre los grupos y subfamilias de GPCR, reveladas por cristalografía, se encuentran en la región del asa extracelular, que presenta un repertorio diverso de estructuras secundarias y reticulaciones de patrones disulfuro⁷. Estas variaciones en las asas extracelulares, las hélices transmembrana y las cadenas laterales crean una notable variedad de tamaños y formas que le confieren propiedades electrostáticas al receptor para reconocer una gran variedad de ligandos⁷. Los DMT son altamente hidrofóbicos, existe información que indica que el sitio de unión del ligando se encuentra en los DMT 2, 3, 5 y 6 donde forman un «nicho»¹³. Sin embargo, es probable que el sitio de unión dependa del receptor y de las características fisicoquímicas del ligando. Al respecto se ha reportado que las aminos biogénicas se unen principalmente en el nicho del receptor, mientras que péptidos y proteínas grandes se unen al receptor en sus regiones extracelulares, principalmente en el extremo amino-terminal, aunque la información es variada².

PROTEÍNAS G

Las proteínas fijadoras de nucleótidos de guanina (proteínas G) son las principales moléculas que interactúan con los GPCR y su activación es el primer paso en la vía de señalización de los GPCR. Las proteínas G comprenden una gran familia de proteínas que están involucradas en la transducción de señales extracelulares a componentes de señalización intracelular y en la regulación de diversas respuestas fisiológicas². Los GPCR muestran afinidad por proteínas G específicas, sin embargo, no hay secuencias consenso que le brinden selectividad a los receptores, es decir, un mismo receptor puede ser afín a diferentes proteínas G¹⁴. Las proteínas G son heterotriméricas (subunidades, α , β y γ) y están agrupadas en cuatro familias basadas en su similitud, localización y funcionalidad de la subunidad α . Estas cuatro familias son: Gs, Gi, Gq y G12/13.

Dentro de la familia Gs se encuentran las proteínas G α s localizadas en gran cantidad de tipos celulares y las G α olf expresadas principalmente en epitelio olfatorio y algunas regiones del encéfalo¹⁵. En la familia Gi tenemos a las G α i/o, que son expresadas en la mayoría de las células del organismo, algunas variantes como G α i1, G α i2, G α i3, G α o se expresan principalmente en neuronas, G α t-rod y G α t-cone en retina, y G α gust y G α z en epitelio bucal¹⁶. Dentro de la familia Gq tenemos a las G α q/11, expresadas en la mayoría de las células, las G α q14, expresadas en pulmón, hígado, riñón, y las G α q15 y G α q16, variantes del mismo gen en roedores y humanos son expresadas en células hematopoyéticas⁷. Finalmente, la familia G12/13 posee únicamente dos miembros, G α 12 y G α 13, que también se expresan en la mayoría de las células del organismo^{1,7}.

Subunidad G α

En humanos existen 16 genes que codifican para 23 proteínas G α . Estas subunidades tienen un tamaño de 39 a 46 kilodalton, poseen un extremo amino-terminal modificado, caracterizado por la unión covalente de un ácido graso, el cual puede ser ácido mirístico o ácido palmítico¹⁶. Esta modificación lipídica en la subunidad G α es importante para su localización a nivel de la membrana celular y regula la interacción de esta subunidad con otras proteínas como la adenilil ciclasa (AC), la subunidad G $\beta\gamma$ y el GPCR⁵. La subunidad G α está compuesta principalmente por dos dominios que generan entre ellos una interfaz (Fig. 2). El primero es un dominio de unión a nucleótido con alta homología estructural a la superfamilia de GTPasas Ras¹⁶. Este dominio consta de una hoja beta central de seis hebras, nombradas como β 1, β 2, β 3, β 4, β 5 y β 6 y está flanqueada por ambas caras con cinco segmentos en hélice alfa: α 1, α 2, α 3, α 4 y α 5^{14,17}. El segundo es un dominio hélice alfa largo rodeado por otras cinco a seis hélices más pequeñas (α A, α B, α C, α D, α E y α F) (Fig. 2). Entre los dos dominios se encuentra un sitio profundo (Fig. 2) de unión a GDP/GTP en el cual se encuentra el asa P que interactúa con el fosfato de los nucleótidos. Este sitio además contiene tres regiones flexibles denominadas I, II y III que cambian la conformación de la subunidad en respuesta a la

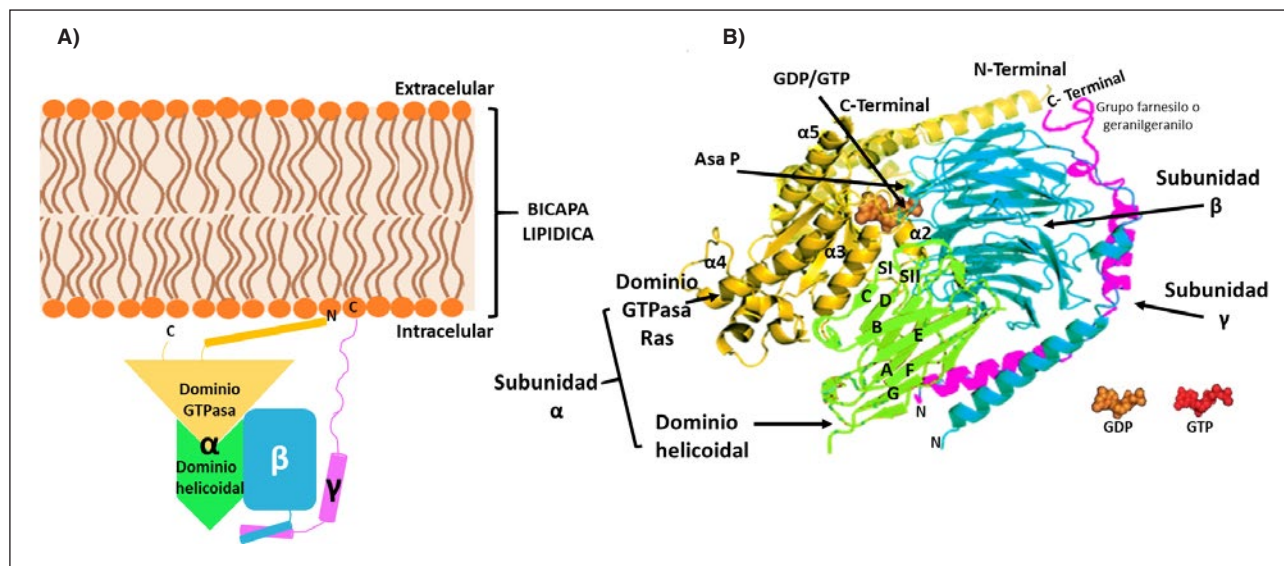


Figura 2. Representación esquemática de la proteína G. A: modelo 2D de la proteína G. B: estructura por cristalografía de una proteína G (obtenida y modificada de GPCRdb).

unión e hidrólisis de GTP⁵. Es importante mencionar que la región amino-terminal de la subunidad G α contiene entre 26 y 36 residuos aminoácidos y los primeros 23 (dominio GTPasa) funcionan como regiones que interaccionan con el dímero G $\beta\gamma$, mientras que generalmente el extremo carboxilo interacciona con el GPCR¹⁸.

Subunidad G $\beta\gamma$

En humanos existen cinco genes que codifican para la subunidad G β que dan lugar a proteínas de 35 a 36 kilodalton y 12 genes que codifican para subunidad G γ que originan proteínas de 8 o 9 kilodalton^{14,16}. La subunidad G β se compone de un dominio hélice amino-terminal y siete hojas β . Cada hoja β está compuesta por cuatro hebras β antiparalelas que forman las cuchillas características de una estructura en forma de propela¹⁹ (Fig. 2). Por su parte, todas las subunidades G γ están preniladas en el extremo carboxilo, algunos implican la transferencia de un resto farnesilo (adición de un grupo isoprenilo a un residuo de cisteína) o geranilgeranilo¹⁶ (Fig. 2). Estas modificaciones lipídicas facilitan la unión de esta subunidad a las membranas y la localización celular del dímero¹⁸. El dímero G $\beta\gamma$ era reconocido únicamente por facilitar el acoplamiento de las

proteínas G con los GPCR y actuar como un inhibidor de la disociación de nucleótidos de la subunidad G α , sin embargo, ahora es bien conocido que seguido de la disociación de la subunidad G α , el dímero G $\beta\gamma$ es capaz de activar a un gran número de proteínas señalizadoras^{20,21}.

ACTIVACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G

Tanto las proteínas G como los GPCR generalmente se deslizan todo el tiempo por la membrana plasmática de manera independiente. Cuando un ligando se une al receptor, este presenta un cambio conformacional en los DMT resultando en diferentes conformaciones activas. Estos cambios se presentan particularmente en las porciones citoplasmáticas del DMT 6 y el DMT 7 y posteriormente entre el DMT 7 y la hélice 8, para poder interaccionar con proteínas G⁵, lo cual desencadena un cambio conformacional dramático en la subunidad G α ^{7,15}. Como se mencionó anteriormente, un GPCR activado normalmente recluta proteínas G a través de la porción citoplasmática de los DMT del receptor. Estas interacciones pueden variar por receptor y por especificidad de las proteínas G¹. De manera general, la

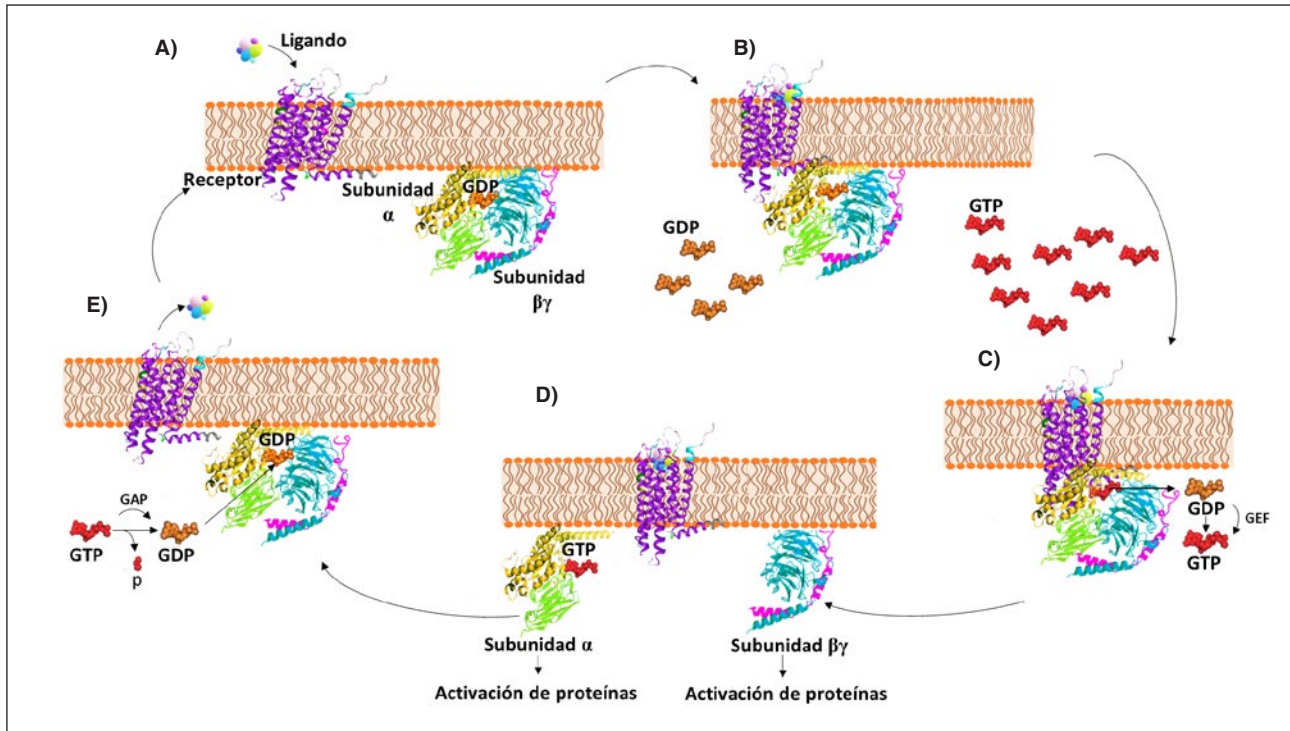


Figura 3. Modelo del ciclo de activación de la proteína G por la interacción de los receptores acoplados a proteína G (GPCR)/ligando.

interacción entre este complejo se efectúa en dos partes: la primera se genera mediante interacciones hidrofóbicas entre el DMT 3, 5, 6 y el asa intracelular 3 del receptor (DMT 5-asa 3-DMT 6) con el dominio carboxilo terminal, hélice 4, 5 y hebras $\beta 6$ de la subunidad α ($G\alpha$ $\alpha 4$ - $\beta 6$ - $\alpha 5$). La segunda interacción está formada mediante interacciones electrostáticas entre el asa intracelular 2, el DMT 7 y la hélice 8 del receptor con la porción final carboxilo-terminal, la lámina β central y la hélice $\alpha 5$ de la subunidad $G\alpha$ ⁵. La unión del GPCR con las proteínas G genera una rotación y extensión de la hélice $G\alpha 5$ dentro del receptor ocasionando un desorden en el sitio de unión a nucleótidos en la interfaz entre el asa P y el asa $\beta 6$ - $\alpha 51$ de la subunidad $G\alpha$. Este cambio conformacional conduce a tres eventos esenciales en el funcionamiento de los GPCR; primero, hay una disminución en la afinidad de la subunidad $G\alpha$ por el GDP que da como resultado la disociación del GDP y la posterior unión de GTP, debido a que la concentración celular de este es mucho más alta que la del GDP, segundo, se da la disociación del dímero $G\beta\gamma$ de la $G\alpha$ y tercero, se disocia la proteína G del GPCR¹⁵ (Fig. 3).

La disociación de la subunidad $G\alpha$ /GTP del dímero $G\beta\gamma$ es la forma biológicamente activa de las proteínas G y regula el funcionamiento y actividad de las proteínas efectoras dentro de la célula. A partir de este momento la señal cambiará dependiendo de las proteínas G de que se traten^{1,15}. La actividad de la GTPasa de las proteínas $G\alpha$ es regulada por los factores de intercambio de nucleótido de guanina (GEF) y las proteínas activadoras de GTPasa (GAP), también llamadas reguladores de la señalización mediada por proteínas G (RGS). Los GEF son clasificados dentro de dos tipos, los de receptor y los de no receptor. La estimulación de los GPCR por un ligando es un ejemplo típico de un GEF tipo receptor, esta acción desencadenará el ciclo de la GTPasa/Ras que es como comúnmente se conoce¹⁷ (Fig. 4). Esto es importante debido a que el GPCR junto con las proteínas G vuelven a su estado inactivo cuando el ligando se libera del receptor y la actividad de la GTPasa que reside en la subunidad $G\alpha$ hidroliza el GTP a GDP. La acción GEF receptor durante el apagado del receptor requiere de efectores y/o RGS (GAP) que contribuyen a la actividad de la GTPasa. Esta modificación restaura el sitio de unión a

nucleótidos en la interfaz de los dos dominios de la subunidad $G\alpha^{15}$ y la consecuente reasociación de la $G\alpha$ libre con el complejo $G\beta\gamma$ para reintegrar el heterotrímero original y completar el ciclo^{15,22} (Fig. 3).

La subunidad $G\alpha s$ una vez disociada del dímero $G\beta\gamma$ puede unirse directamente a los dominios catalíticos de una enzima transmembrana denominada AC donde reconoce secuencias conservadas de aminoácidos para activarla²³. La AC posee dominios catalíticos (C1a y C2a) expuestos al interior de la célula, los cuales forman un dímero que constituye el sitio de unión a trifosfato de adenosina (ATP). Cuando la AC se activa, se genera una reducción en

143



La enzima PKA activa puede transferir grupos fosfato a otras proteínas y por lo tanto modificar el metabolismo de la célula mediante la activación de diferentes vías de señalización que pueden incluir la activación de factores de transcripción²⁸. Algunos ejemplos de moléculas que son activadas por PKA son; los canales iónicos de Na⁺ y Ca²⁺, enzimas

144

La PKA en el núcleo puede activar a las histonas H3 para mediar efectos de represión y transcripción de genes³² (Fig. 5).

Proteínas Gi

La subunidad $G\alpha i$ disociada de las subunidades $G\beta\gamma$ después de la activación de los GPCR evita la activación de la AC, con lo que se reduce la síntesis de AMPc, se evita la activación de PKA y por lo tanto la señalización AMPc/PKA no se desencadena^{2,28}. Existen dos teorías por las cuales la $G\alpha i$ inhibe la activación de la AC. La primera propone que $G\alpha s$ unida a GTP interactúa con el dominio C2 de la AC a través de secuencias conservadas de aminoácidos, sin embargo, debido a que la $G\alpha i$ carece de estas secuencias de aminoácidos no se puede activar la AC³³. La segunda y más aceptada se refiere a que el dominio Ras (GTPasa) puede sufrir un proceso de palmitoilación y miristoilación en el extremo amino-terminal³³. La miristoilación desencadena un cambio conformacional en la subunidad $G\alpha i$, provocando la formación de un nicho hidrofóbico que impide la interacción con la AC y por lo tanto no se activa esta enzima³³.

Anteriormente, se conocía que las moléculas que activan este tipo de receptores tenían como principal función disminuir o inhibir la actividad de la célula que previamente fue estimulada. Sin embargo, en la actualidad se ha comprobado que, si bien se reduce la señalización desencadenada por la vía AMPc/PKA, la célula estimulada por un ligando a través de las proteínas $G\alpha i$ activa otras vías de señalización a través del dímero $G\beta\gamma$ ¹⁸ (Fig. 5). El dímero $G\beta\gamma$ activa diversas moléculas reguladoras incluyendo cinasas, lipasas, GTPasas y canales iónicos como los de K⁺. Dentro de las principales moléculas que activa el dímero $G\beta\gamma$ se encuentran las MAPK-ERK1/2, la JNK y la fosfolipasa C (PLC)²⁹. A través de Ras/Raf activa a las ERK1/2 para estimular la expresión y activación de c-jun, c-fos y la proteína de respuesta de crecimiento temprano 1 (Egr-1)/factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2) para favorecer la proliferación celular. Además, activa la vía de señalización PI3K/AKT para favorecer la supervivencia y migración celular. Es importante destacar que

la señalización generada por las subunidades $G\beta\gamma$ no es exclusiva de las proteínas Gi, sino que prácticamente se ha observado en todos los tipos de proteínas G¹⁸.

Proteínas Gq

La disociación de la subunidad $G\alpha q$ de las subunidades $G\beta\gamma$ conduce a la activación de la enzima fosfolipasa C β (PLC β) localizada en la membrana plasmática²⁸. La estructura de la $G\alpha q$ consiste en un dominio alfa hélice, tres dominios *switch* (I, II y III), un dominio GTPasa, seis hebras β (1-6) y cinco hebras α (1-5)³. Tras la activación de las proteínas $G\alpha q$, las hebras hélice $\beta 4$ y $\alpha 3$ cambian su conformación quedando expuestas para permitir una unión con alta afinidad al extremo carboxilo terminal de la PLC β . La PLC β activa hidroliza a un fosfolípido de membrana plasmática denominado fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) y lo convierte en inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG) (Fig. 4). Cuando el PIP₂ y la PLC β se unen a través de interacciones electrostáticas con los aminoácidos cargados positivamente en el dominio PH de la lipasa, la PLC hidroliza el enlace fosfodiéster resultando en la disociación de PIP₂ y DAG³⁴. Posteriormente el PIP₂ es fosforilado en el carbono 1 para transformarse en IP₃, el cual se difunde hacia el citoplasma mientras que el DAG permanece anclado a la membrana^{35,36} (Fig. 4). Este proceso ocasiona un incremento rápido en las concentraciones de IP₃ en el citoplasma que favorece su interacción con un canal iónico de Ca²⁺ localizado en la membrana del retículo endoplásmico. La unión de IP₃ con el canal de Ca²⁺ desencadena la movilización de iones de Ca²⁺ de un sitio de elevada concentración (retículo) a uno de baja concentración (citoplasma)³⁶. La liberación de Ca²⁺ al citoplasma y el DAG activarán a la proteína cinasa C (PKC) para desencadenar diversas respuestas biológicas^{3,36}.

La familia de PKC se ha dividido en tres grupos: clásica (cPKC; α , β I, β II, y γ), nueva (nPKC; δ , ϵ , η y θ) y atípica (aPKC; ζ , λ y). Todas las PKC muestran un dominio carboxilo-terminal común que contiene un sitio de unión a ATP (C3) y un dominio de unión a sustrato (C4) que corresponden a la región catalítica

de la enzima, sin embargo, difieren en la presencia, posición o ausencia del dominio C1 y C2 en la región reguladora^{29,30}. El sitio de regulación localizado en el extremo amino-terminal se encarga de modular los dominios C1 (a y b) que corresponden a los sitios de unión a DAG, ésteres de forbol y el dominio C2 que corresponden al sitio de unión a Ca^{2+} . La PKC posee una región pseudosustrato localizada en la región amino-terminal que imita al sustrato y carece de la secuencia Ser/Thr, fundamental para la activación de la cinasa³⁷.

Cuando la PKC se encuentra en una conformación desplegada asociada a la membrana plasmática y sus dominios C1a, C1b y C2 están completamente expuestos y el pseudosustrato y el extremo C-terminal están descubiertos, la cinasa dependiente de fosfoinositol 1 (PDK1) se encarga de fosforilar a la PKC en su asa de activación (Thr 500), seguido de autofosforilación en el motivo de giro (Thr 641) y el motivo hidrofóbico (Ser 660). Esta fosforilación es necesaria para la estabilización y la maduración de la PKC³⁸. Seguido de la autofosforilación, la PKC adopta una conformación cerrada en la que el dominio C2 interactúa con el dominio de la cinasa (catalítico) y atrapa al pseudosustrato en el sitio de unión al sustrato, ambos dominios C1 se enmascaran y la enzima ahora se localiza en el citosol. Cuando la $\text{PLC}\beta$ induce la síntesis de IP_3 y DAG con la subsecuente liberación de Ca^{2+} desde el retículo, el Ca^{2+} se une al dominio C2 de PKC a través de una interacción de baja afinidad de tal manera que este complejo migra hacia la membrana (Fig. 5). El Ca^{2+} unido al dominio C2 es lo que favorece que la PKC se retenga en la membrana plasmática y genere contacto con lípidos aniónicos incluido PIP_2 ³⁹. La PKC mediante su dominio C1b se une a DAG que se localiza embebido en la membrana, lo que resulta en la liberación del pseudosustrato desde la cavidad de unión al sustrato, activando así a la PKC. Esto genera que la PKC activa se desplace al citosol y se encuentre en una conformación en la que los sitios de fosforilación estén expuestos y puedan interactuar con segundos mensajeros para continuar con la cascada de señalización^{37,39} (Fig. 4). La activación de la PKC mediante receptores acoplados a proteínas Gq ha sido involucrada en distintos procesos fisiológicos como la glucogenólisis y

gluconeogénesis, la excitación neuronal, la contracción muscular, la eyaculación, la secreción glandular y formación ósea, entre otras⁴. A nivel celular se ha mostrado que la PKC fosforila de manera directa canales de calcio localizados en la membrana celular para permitir el ingreso de Ca^{2+} desde el espacio extracelular y con ello favorecer la exocitosis de moléculas, la contracción del músculo liso por medio de la activación de la calponina y activar a la vía Rac-JNK para estimular la migración celular. Asimismo, activa la vía Janus cinasa/transductoras de señales y activadoras de la transcripción (JAK/STAT) para potenciar esta vía de señalización. La PKC también se encarga de activar al factor de transcripción nuclear kappa (NF-KB) y a la proteína p38, fosforilar a las cinasas Raf para activar la vía de las MAPK-ERK1/2. Todos estos efectos modulan y promueven la sobrevivencia y la proliferación celular. Se ha reportado que la PKC puede activar a las proteínas de señalización intracelular denominada protooncogén tirosina-proteína cinasa (Src), cuya función es transmitir señales desde varios receptores de membrana o bien a través de la subunidad $\text{G}\beta\gamma$ activar estas cinasas (Fig. 4).

Proteínas G12/13

Las proteínas G12/13 estimulan la activación de los factores de intercambio de nucleótidos GEF (RGS-RhoGEF), quienes promueven la actividad de las pequeñas proteínas G RhoA^{7,16} mediante el intercambio de GDP a GTP en estas proteínas para activar diversas vías de señalización⁴⁰ (Fig. 4). Los RGS-RhoGEF efectores contienen dominios RGS. El dominio de homología Dbl (DH) proporciona el sitio para catalizar el intercambio de nucleótidos y, por lo tanto, activar las proteínas Rho. El dominio de homología a pleckstrina muestra variaciones con respecto a la secuencia de aminoácidos y la actividad biológica. Las funciones de este dominio van desde la facilitación de la interacción con Rho hasta la localización del GEF mediante la asociación con fosfoinositoles específicos¹⁶.

La subfamilia Rho está formada por varios miembros: Rho-A, B, C, D y E; Rac 1, 2 y 3; y el homólogo de la proteína 42 de control de división celular

(Cdc42), entre otras. Una de las características principales de las proteínas Rho, como de todas las proteínas G, es que unen nucleótidos de guanina y ciclan entre un estado inactivo unidas a GDP y un estado activo unidas a GTP⁴¹. Estas proteínas tienen actividad GTPasa endógena, pudiendo hidrolizar el GTP a GDP en un proceso dependiente de magnesio⁴¹. La activación de la vía RhoA/Rho-cinasa (ROCK) es esencial para la remodelación de los filamentos de actina del citoesqueleto. Adicionalmente, esta vía se encarga de fosforilar las MLC por la inhibición de la subunidad de unión a miosina, causando reorganización de las miofibrillas, contracción muscular y la activación del factor de transcripción A relacionado con el miocardio⁷. Además, la activación de ROCK modula la vía MAPK/ERK1/2 y la activación del NF-KB para la transcripción de la ciclooxigenasa 2 y del factor de transcripción asociado a Yes para favorecer la transcripción del ARNm de la ciclina D2 y así estimular la sobrevivencia, diferenciación y proliferación celular^{7,40}. La vía RhoA estimula la formación de fibras contráctiles de acto-miosina, la Cdc42 promueve la formación de filopodios y a su vez evita la renovación de actina. Por su parte, la vía Rac promueve la formación de lamelipodios y ensamblaje de actina promoviendo así la migración celular⁴² (Fig. 4).

REGULACIÓN DE GPCR

La señalización de los GPCR es esencial para el funcionamiento normal de las células, por lo que esta debe ser finamente regulada para evitar fallas en la función celular y tisular⁶. Los mecanismos de regulación consisten básicamente en evitar o reducir la señalización de los GPCR, ya sea de forma transitoria o durante un periodo de tiempo prolongado⁶. La regulación a la baja es un mecanismo bien conocido para muchos GPCR que consiste en la internalización de los receptores y en la disminución de su expresión en la membrana plasmática cuando la célula es estimulada por altas concentraciones del ligando por minutos u horas^{2,6}. Para esto, existen dos mecanismos que regulan la actividad de los GPCR; desensibilización e internalización.

Desensibilización

El primer paso en la desensibilización de los GPCR es la fosforilación del receptor por proteínas cinasas dependientes de segundos mensajeros como la PKA, PKC o por las cinasas de receptores acoplados a proteínas G (GRK)². Se han postulado dos tipos de desensibilizaciones, la heteróloga y la homóloga³ (Fig. 6). La desensibilización heteróloga del receptor en presencia y ausencia del ligando está mediada por PKA o PKC. Como sabemos, la activación de un GPCR por su ligando puede desencadenar la activación de PKA o PKC para desencadenar una señalización. Sin embargo, dependiendo de la intensidad en la estimulación del receptor, tanto la PKA como la PKC pueden fosforilar al receptor para inactivarlo y con ello generar una retroalimentación negativa sobre la activación del receptor⁶. Además, la PKA y la PKC poseen la capacidad de fosforilar receptores no estimulados como resultado de la estimulación de otro GPCR^{2,3,6} (Fig. 6). Se ha postulado que la fosforilación de un GPCR por proteínas cinasas dependientes de segundos mensajeros como PKA y PKC es efectuada principalmente a bajas concentraciones del ligando⁶. Por su parte, la desensibilización homóloga implica que las GRK fosforilen al receptor en presencia del ligando (Fig. 6), pero no se muestra una activación de AC ni la síntesis de AMPc debido a que desacopla a las proteínas G². Esta desensibilización ocurre a altas concentraciones del ligando y promueve o no la unión de arrestinas al receptor⁹. Las GRK son proteínas que necesitan mecanismos específicos para que interaccionen con los GPCR. Existen siete proteínas GRK (GRK/1- 7), unas son solubles y se asocian a las membranas como efectores de G $\beta\gamma$, pero otras son proteínas periféricas de membrana que poseen un dominio PH⁴³. Estas dos características facilitan su unión a las membranas celulares vía anclajes lipídicos^{2,43}. Cuando el ligando se encuentra en altas concentraciones y se une con su receptor, ocurre un cambio conformacional que permite su activación y por consiguiente la unión de las proteínas G, se desacoplan las subunidades G $\beta\gamma$ y se encarga de reclutar a las GRK2/3 a la membrana donde el receptor GPCR reside, lo que conlleva una reducción en la afinidad por las proteínas G¹⁸. Las GRK2/3 ahora fosforilan al receptor específicamente en los

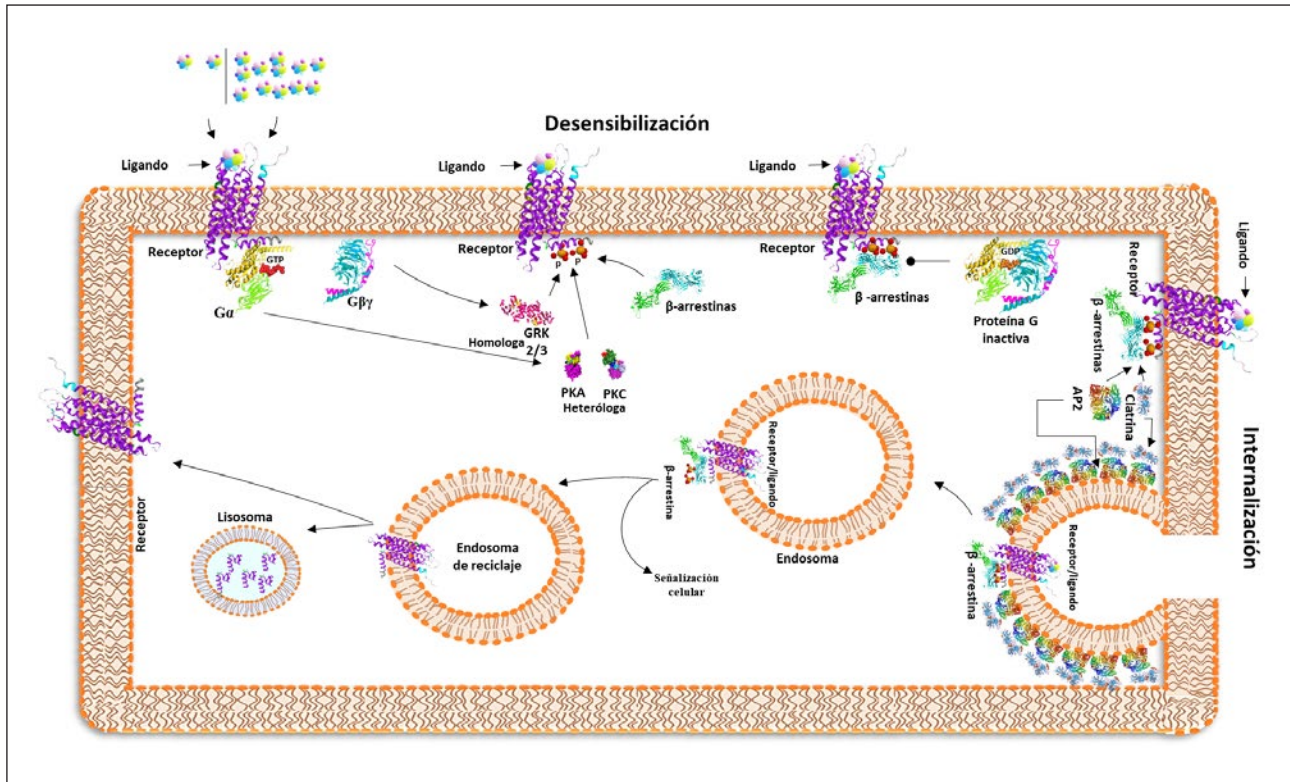


Figura 6. Mecanismo de regulación de los receptores acoplados a proteína G (GPCR). Desensibilización, internalización de los GPCR.

residuos serina/treonina del dominio carboxilo-terminal o en las asas intracelulares, facilitando el reclutamiento de arrestinas y así apagar la señalización del receptor y de los GPCR cercanos⁹ (Fig. 6). Esta acción favorece la afinidad de unión de las β -arrestinas al receptor, quienes interceptan el acoplamiento de las proteínas G y bloquean la señalización mediada por estas proteínas⁴³ (Fig. 6). Esto da como resultado la desensibilización de la señal del GPCR⁹. Además, las β -arrestinas reclutan fosfodiesterasas y diacilglicerol cinasas que degradan a los segundos mensajeros activados (AMPc-PKA y PKC) y su participación es importante en la internalización de los GPCR⁴⁴.

Internalización

Después de unirse al ligando, los GPCR se activan y posteriormente se desensibilizan para finalizar el ciclo de señalización. Adicionalmente, como se ha mencionado, dependiendo de la duración del

estímulo y la concentración del ligando se desencadenará la internalización de los receptores (Fig. 6). Los GPCR pueden ser degradados o reciclados de vuelta a la membrana, lo que representa un importante paso en la dinámica de regulación de los GPCR^{2,3,6} (Fig. 6).

El mecanismo mejor caracterizado de internalización de GPCR es vía vesículas cubiertas con clatrina y este es un paso importante en la desfosforilación y reciclaje de GPCR activados (Fig. 6). La formación de estas vesículas inicia con la interacción del receptor con las arrestinas por lo que estas proteínas son indispensables para la internalización y reciclaje de receptores a la superficie celular^{2,8}. Las arrestinas comprenden una familia de proteínas distribuidas en la mayoría de los tejidos. Las arrestinas 1 y 4 se expresan solo en conos y bastones de la retina mientras que las β -arrestinas 1 y 2 que inhiben la función de los receptores beta-adrenérgicos se expresan en la mayoría de las células del organismo. Recientemente, se encontraron las α -arrestinas conocidas como proteínas andamio o armazón que

regulan la señalización de los GPCR, también expresadas en casi todos los tejidos^{5,43}. Cuando las arrestinas se unen al receptor, se activan y sufren reordenamientos conformacionales para iniciar el proceso de internalización⁵ (Fig. 6). El dominio fosforilado de las β -arrestinas atrae e interacciona con el complejo clatrina y la proteína adaptadora de clatrina (AP2) desencadenando la endocitosis del receptor⁴⁴ (Fig. 6). Adicionalmente, las β -arrestinas se relacionan con las ubiquitinas ligasas E3 específicas que marcan tanto a la β -arrestina como al GPCR para su degradación⁵. Simultáneamente, se ha observado que pueden reclutar y activar múltiples componentes como las MAP cinasa cinasa cinasa (MAPKKK) y MAPK propagando así rutas lineales específicas de señalización⁴⁴. Durante este proceso, el complejo β -arrestina-GPCR puede localizarse en las endosomas y por otro lado otras arrestinas interaccionan con las MAPK permitiendo la señalización⁴⁴. Una vez internalizados, los GPCR pueden ser degradados como se mencionó o ser reciclados de vuelta a la membrana. Esto dependerá de cada receptor, los estímulos y de la estabilidad del complejo receptor/ β -arrestinas/ubiquitina^{2,3} (Fig. 6).

IMPLICACIÓN CLÍNICA DE LOS GPCR

Como se ha mencionado a lo largo de la revisión, los GPCR median una amplia gama de procesos de señalización necesarios para el funcionamiento adecuado de prácticamente todas las células del cuerpo. Por esta razón, estos receptores han sido blanco para el desarrollo de fármacos que permiten modular el funcionamiento de órganos y tejidos, y así controlar enfermedades. En 2020, de los 1,500 fármacos aprobados por la FDA (*Food and Drug Administration*) para su uso en humanos, el 36% tenía como blanco a los GPCR⁴⁵. Los fármacos que modifican la función de los GPCR se usan para el control de un gran número de enfermedades, que incluyen tratamiento del dolor, control de problemas metabólicos (diabetes y la obesidad), tratamiento de cáncer, tratamiento de problemas cardiovasculares y respiratorios, y tratamiento de desórdenes nerviosos, entre otros^{45,46}. De los fármacos aprobados por la FDA que

tienen como blanco a los GPCR, alrededor de 50 se usan para el tratamiento de la hipertensión, más de 40 funcionan como analgésicos y alrededor de 20 se usan para el tratamiento de depresión y cáncer⁴⁷. Entre los agentes farmacológicos que se encuentran en desarrollo, la mayoría se podría usar para el control de cáncer y diabetes⁴⁷. Estos fármacos funcionan como agonistas o antagonistas para reemplazar o mejorar niveles bajos de ligandos endógenos o para inhibir la acción de ligandos en condiciones específicas^{46,47}, algunos ejemplos son:

- La morfina y el fentanilo que se usan para el tratamiento crónico del dolor o incluso como anestésicos (alfentanilo, análogo del fentanilo) se unen al receptor de opioides- μ (MOR) para ejercer sus efectos^{45,48}.
- El candesartán y el valsartán se usan para el tratamiento de la hipertensión y la insuficiencia congestiva cardiaca. Estos fármacos funcionan como antagonistas del receptor 1 de la angiotensina II para evitar los efectos biológicos de esta hormona antidiurética^{45,49}. En contraparte, la giapreza es un agonista del receptor de angiotensina II y se utiliza en adultos que padecen presión arterial baja para promover la retención de líquidos y con ello incrementar la presión hidrostática vascular⁴⁶.
- La semaglutida, la albiglutida y la teduglutida, se utilizan para el tratamiento de la diabetes *mellitus* tipo 2 y son agonistas del receptor de GLP-1 (péptido similar al glucagón-1)⁵⁰. Como sabemos, el GLP-1 tiene potentes efectos insulínotropicos, por lo cual el uso de estos agonistas induce la secreción de insulina y permite reducir la glucemia^{51,52}.
- La setmelanotida es un análogo de los receptores de melanocortina cuyo estudio se inició en el 2019⁴⁶. Debido a que las melanocortinas reducen el consumo de alimento⁵³, la unión de este fármaco con el MC4R (receptor 4 de las melanocortinas) principalmente reduce el consumo de alimento y puede ser usado para el control de la obesidad⁵⁴.
- El salmeterol es un agonista del receptor β_2 -adrenérgico que se usa para el control del asma. La unión del salmeterol a este receptor induce broncodilatación para facilitar el flujo de aire a través del árbol bronquial.

- El plerixafor junto con algunos péptidos en desarrollo como el BL-8040 funcionan como antagonistas de CXCR4 y se utilizan para inducir la movilización de células madre hematopoyéticas y favorecer el trasplante de estas células en pacientes con leucemia^{45,46}.
- En cuanto a fármacos que afectan el sistema nervioso, la lamotrigina se une al receptor 3 de la serotonina y reduce la secreción de glutamato y aspartato en el sistema nervioso central, por lo que se ha usado en el tratamiento de epilepsia y desorden bipolar^{45,55}.

CONCLUSIONES

La homeostasis cardiovascular, inmunológica, neurológica, metabólica y endocrina, entre otras, está regulada por procesos dinámicos mediados por los GPCR. La pérdida de esta homeostasis puede resultar en alteraciones en estos receptores siendo una de las principales causas de desórdenes fisiológicos. Por lo que el conocimiento de la estructura de los GPCR, su interacción con la proteína G, la señalización que desencadenan y su regulación los ha situado como unos de los principales blancos terapéuticos más importantes en la industria médico-farmacéutica en condiciones fisiológicas y patológicas.

AGRADECIMIENTOS

Al posdoctorado DGAPA, UNAM por la beca # 328 de Cyndi Gabriela Hernández Coronado y al CONA-CyT por el proyecto A1-S-21990.

FINANCIAMIENTO

La presente investigación no ha recibido ninguna beca específica de agencias de los sectores públicos, comercial o con ánimo de lucro.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Glukhova A, Draper-Joyce CJ, Sunahara RK, Christopoulos A, Wooten D, Sexton PM. Rules of engagement: GPCRs and G proteins. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2018;1(2):73-83.
2. Hendriks-Balk MC, Peters SL, Alewijnse AE. Regulation of G protein-coupled receptor signalling: focus on the cardiovascular system and regulator of G protein signalling proteins. *Eur J Pharmacol.* 2008;585(2-3):278-91.
3. Prazeres DM, Martins SA. G protein-coupled receptors: an overview of signaling mechanisms and screening assays. *Methods Mol Biol.* 2015;1272:3-19.
4. Bauer E. G Protein-coupled receptors: What are they and how do they work? [Internet]. *Psychedelic Science Review*; 1/abril/2020 [consultado: 12 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://psychedelicreview.com/g-protein-coupled-receptors-what-are-they-and-how-do-they-work/>
5. Zhou Q, Yang D, Wu M, Guo Y, Guo W, Zhong L, et al. Common activation mechanism of class A GPCRs. *Elife.* 2019;8:e50279.
6. Rajagopal S, Shenoy SK. GPCR desensitization: Acute and prolonged phases. *Cell Signal.* 2018;41:9-16.
7. Syrovatkin V, Alegre KO, Dey R, Huang XY. Regulation, signaling, and physiological functions of G-proteins. *J Mol Biol.* 2016;428(19):3850-68.
8. Walther C, Ferguson SS. Minireview: Role of intracellular scaffolding proteins in the regulation of endocrine G protein-coupled receptor signaling. *Mol Endocrinol.* 2015;29(6):814-30.
9. Bologna Z, Teoh JP, Bayoumi AS, Tang Y, Kim IM. Biased G protein-coupled receptor signaling: New player in modulating physiology and pathology. *Biomol Ther (Seoul).* 2017;25(1):12-25.
10. Gurevich VV, Gurevich EV. GPCRs and signal transducers: Interaction stoichiometry. *Trends Pharmacol Sci.* 2018;39(7):672-84.
11. GPCRdb [sede web]. The G protein database. Disponible en: <https://gpcrdb.org/>
12. Chen Q, Miller LJ, Dong M. Role of N-linked glycosylation in biosynthesis, trafficking, and function of the human glucagon-like peptide 1 receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(1):E62-8.
13. Sánchez-Lemus E, Arias-Montaña JA. Transactivación de receptores con actividad de cinasa de tirosina (RTK's) por receptores acoplados a proteínas G. *Rev Biomed.* 2004;15(1):33-48.

14. Hollmann MW, Strumper D, Herroeder S, Durieux ME. Receptors, G proteins, and their interactions. *Anesthesiology*. 2005;103(5):1066-78.
15. Zachariou V, Duman RS, Nestler EJ. G proteins. En: Joyce AB, Fisher SK, Bazán MD, Hall AK, Coyle TJ, Sisodia SS, editores. *Basic neurochemistry*. New York: Academic Press; 2012. pp. 411-422.
16. McCudden CR, Hains MD, Kimple RJ, Siderovski DP, Willard FS. G-protein signaling: back to the future. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(5):551-77.
17. Mizuno N, Itoh H. Functions and regulatory mechanisms of Gq-signaling pathways. *Neurosignals*. 2009;17(1):42-54.
18. Senarath K, Kankanamge D, Samaradivakara S, Ratnayake K, Tennakoon M, Karunaratne A. Regulation of G protein β signaling. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;339:133-91.
19. Karunaratne WK, O'Neill PR, Martinez-Espinosa PL, Kalyanaraman V, Gautam N. All G protein β complexes are capable of translocation on receptor activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;421(3):605-11.
20. Leopoldt D, Hanck T, Exner T, Maier U, Wetzker R, Nürnberg B. Gbetagamma stimulates phosphoinositide 3-kinase-gamma by direct interaction with two domains of the catalytic p110 subunit. *J Biol Chem*. 1998;273(12):7024-9.
21. Smrcka AV, Lehmann DM, Dessal AL. G protein betagamma subunits as targets for small molecule therapeutic development. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2008;11(5):382-95.
22. Milligan G, Kostenis E. Heterotrimeric G-proteins: a short history. *Br J Pharmacol*. 2006;147 Suppl 1(Suppl 1):S46-55.
23. Qi C, Sorrentino S, Medalia O, Korkhov VM. The structure of a membrane adenylyl cyclase bound to an activated stimulatory G protein. *Science*. 2019;364(6438):389-94.
24. Hannah-Shmouni F, Faucz FR, Stratakis CA. Alterations of phosphodiesterases in adrenocortical tumors. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:111.
25. Yang H, Yang L. Targeting cAMP/PKA pathway for glycemic control and type 2 diabetes therapy. *J Mol Endocrinol*. 2016;57(2):R93-R108.
26. Schulman H. Intracellular signaling. En: Byrne JH, Heidelberger R, Waxham MN, editores. *From molecules to networks*. Boston: Academic Press; 2014. pp. 119-148.
27. Sørberg K, Moen LV, Skålhegg BS, Laerdahl JK. Evolution of the cAMP-dependent protein kinase (PKA) catalytic subunit isoforms. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181091.
28. Guzmán A, Rosales-Torres AM, Hernández-Coronado C. Hormonas que regulan la reproducción: Mecanismo de acción (Spanish edition). Editorial Académica Española; 2017.
29. Casarini L, Crépeux P. Molecular mechanisms of action of FSH. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:305.
30. Yang JX, Lin Y. The action of PKA on smooth muscle myosin phosphorylation. *Life Sci*. 2005;77(21):2669-75.
31. Nishi A, Kuroiwa M, Shuto T. Mechanisms for the modulation of dopamine D(1) receptor signaling in striatal neurons. *Front Neuroanat*. 2011;5:43.
32. Massimi M, Ragusa F, Cardarelli S, Giorgi M. Targeting cyclic AMP signaling in hepatocellular carcinoma. *Cells*. 2019;8(12):1511.
33. van Keulen SC, Rothlisberger U. Exploring the inhibition mechanism of adenylyl cyclase type 5 by n-terminal myristoylated G α i1. *PLoS Comput Biol*. 2017;13(9):e1005673.
34. Zhang L, Shi G. Gq-coupled receptors in autoimmunity. *J Immunol Res*. 2016;2016:3969023.
35. van der Voet M, Berends CW, Perreault A, Nguyen-Ngoc T, Gönczy P, Vidal M, et al. NuMA-related LIN-5, ASPM-1, calmodulin and dynein promote meiotic spindle rotation independently of cortical LIN-5/GPR/Galpha. *Nat Cell Biol*. 2009;11(3):269-77.
36. Leonard TA, Rózycki B, Saidi LF, Hummer G, Hurley JH. Crystal structure and allosteric activation of protein kinase C β II. *Cell*. 2011;144(1):55-66.
37. Cosentino-Gomes D, Rocco-Machado N, Meyer-Fernandes JR. Cell signaling through protein kinase C oxidation and activation. *Int J Mol Sci*. 2012;13(9):10697-721.
38. Kazi JU. The mechanism of protein kinase C regulation. *Front Biol*. 2011;6(4):328.
39. Newton AC, Antal CE, Steinberg SF. Protein kinase C mechanisms that contribute to cardiac remodelling. *Clin Sci (Lond)*. 2016;130(17):1499-510.
40. Mahajan-Thakur S, Bien-Möller S, Marx S, Schroeder H, Rauch BH. Sphingosine 1-phosphate (S1P) signaling in glioblastoma multiforme-A systematic review. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11):2448.
41. Menna PL, Cardama GA, Comin MJ, Alonso DF, Gómez DE. Rho GTPasas como blancos terapéuticos relevantes en cáncer y otras enfermedades humanas. *Medicina (Buenos Aires)*. 2010;70(6):555-64.
42. Möller LLV, Klip A, Sylow L. Rho GTPases-emerging regulators of glucose homeostasis and metabolic health. *Cells*. 2019;8(5):434.
43. Gurevich VV, Gurevich EV. GPCR signaling regulation: The role of GRKs and arrestins. *Front Pharmacol*. 2019;10:125.
44. Jean-Charles PY, Kaur S, Shenoy SK. G protein-coupled receptor signaling through β -arrestin-dependent mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2017;70(3):142-58.
45. Alhosaini K, Azhar A, Alonazi A, Al-Zoghaibi F. GPCRs: The most promiscuous druggable receptor of the mankind. *Saudi Pharm J*. 2021;29(6):539-51.
46. Davenport AP, Scully CCG, de Graaf C, Brown AJH, Maguire JJ. Advances in therapeutic peptides targeting G protein-coupled receptors. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19(6):389-413.
47. Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB, Gloriam D. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(12):829-42.
48. Ricarte A, Dalton JAR, Giraldo J. Structural assessment of agonist efficacy in the μ -opioid receptor: Morphine and fentanyl elicit different activation patterns. *J Chem Inf Model*. 2021;61(3):1251-74.
49. Jacobson KA. New paradigms in GPCR drug discovery. *Biochem Pharmacol*. 2015;98(4):541-55.
50. Oliveira C, Xuenan S, Dayoung O. Metabolic functions of G protein-coupled receptors and β -arrestin mediated signaling pathways in the pathophysiology of type 2 diabetes and obesity. *Front Endocrinol*. 2021;12:1005.
51. Moran BM, McKillop AM, O'Harte FP. Development of novel ligands for peptide GPCRs. *Curr Opin Pharmacol*. 2016;31:57-62.
52. Kimura T, Pydi SP, Pham J, Tanaka N. Metabolic functions of G protein-coupled receptors in hepatocytes-potential applications for diabetes and NAFLD. *Biomolecules*. 2020;10(10):1445.
53. Guzmán C. Control de la ingesta alimentaria: rol del receptor 4 de melanocortina en el desarrollo de obesidad. *Rev Chil Endocrinol Diabetes*. 2015;8(1):19-24.
54. Ryan D. Setmelanotide: what does it mean for clinical care of patients with obesity? *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(12):933-5.
55. Hashimoto Y, Kotake K, Watanabe N, Fujiwara T, Sakamoto S. Lamotrigine in the maintenance treatment of bipolar disorder. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021;9(9):CD013575.