

# TENDINȚE NOI ÎN EVALUAREA RECEPTORILOR CARDIACI

M. Sabău

Disciplina de fiziologie  
Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu-Mureș

Avînd în vedere că inima este constituită din mai multe tipuri de celule în care există variați receptori, identificarea acestora ca și modul în care răspund la activările acute și cronice se dovedește de o importanță deosebită pentru înțelegerea posibilităților adaptative ale inimii și reușita unor scheme terapeutice.

Receptorii constituie o clasă de proteine membranare cu o mare afinitate și specificitate pentru liganzi. Activitatea lor este legată direct sau indirect de canalele ionice membranare ceea ce le explică implicarea în mecanismele funcționale miocardice. Cercetările experimentale realizate pe omogenate membranare obținute în timpul intervențiilor chirurgicale sau examinările post-mortem au arătat că numărul și/sau afinitatea receptorilor se modifică în unele afecțiuni cum ar fi ischemia, infarctul miocardic, insuficiența cardiacă congestivă, cardiomiopatii, transplantul cardiac (4, 5, 6, 7, 8, 13, 15, 22). Principalul dezavantaj al acestor metode este acela că *in vitro*, receptorii fiind scoși din mediul lor natural, interrelația lor cu celelalte componente tisulare nu mai este cea normală.

Pentru a înlătura aceste neajunsuri au fost introduse tehnicile radioizotopice *in vivo* cum ar fi *mappingul* autoradiografic și tomografia emisivă cu pozitroni (PET). Față de prima posibilitate care nu poate oferi date despre evoluția modificărilor în timp, PET permite o vizualizare cantitativă a densității și afinității receptorilor utilizabilă în studii clinice (19, 20). Desigur, PET presupune tehnici costisitoare și foarte sofisticate necesitînd existența unui ciclotron și a unui personal înalt calificat, precum și rezolvarea unor probleme legate de străbaterea barierelor din calea liganzului în drumul său spre inimă și interacțiunea acestuia cu diferitele structuri cardiace. Pentru a fi utilizabili liganzii trebuie să îndeplinească anumite condiții:

- să aibă o mare specificitate pentru un anumit receptor și în același timp să aibă o capacitate scăzută pentru fixarea nespecifică;
- să ajungă rapid la receptori în stare nemetabolizată;
- să aibă un raport singe/tesut ridicat pentru a evita corecția pentru radioactivitatea circulantă;
- să nu aibă efecte secundare.

Se cunosc astfel de liganzi dintre care cei mai utilizați sînt  $C^{11}$  metilquinuclidinil benzilatul pentru receptorii colinergici, muscarinici,  $C^{11}$  pindololul pentru receptorii beta adrenergici,  $C^{11}$  prazosinul pentru receptorii alfa adrenergici,  $C^{11}$  ketanserina pentru receptorii serotoninergici sau  $F^{18}$  fluorometaraminolul pentru *mappingul* neuronal adrenergic (20).

De mare importanță pentru activitatea cardiacă sînt *receptorii adrenergici* prin care catecolaminele modulează o varietate de răspunsuri fiziologice legate în special de creșterea frecvenței și forței de contracție. Fiecare din cele 2 grupe de receptori adrenergici alfa și beta cuprind subtipurile 1 și 2. Ei au putut fi purificați, genele și/sau ADN pentru subtipurile alfa 2, beta 1 și 2 au fost izolate, iar secvența lor determinată. S-a putut stabili de exemplu că în ciuda unei mari similarități în secvența aminoacizilor ce constituie proteinele din care sînt alcătuiți beta 1 și beta 2 receptorii, aceștia sînt produși de gene diferite (12).

Deși efectele stimulării simpatică sînt studiate de mulți ani, fiind și cele mai cunoscute, explorarea in vivo a receptorilor adrenergici cu ajutorul radioliganzilor a adus date lămuritoare deosebite cu privire la modul lor de funcționare.

Se știe mult mai puțin despre alfa receptorii cardiaci decît despre beta receptorii. Studiile cu  $C^{11}$  prazosin, un blocant al alfa 1 receptorilor, au arătat o răspîndire relativ uniformă a acestora la nivelul miocardului (5).

În ceea ce privește beta receptorii, ei sînt numeroși la nivelul întregii inimi, în miocard predominînd beta 1. Receptorii beta 2 se găsesc răspîndiți pe întreg teritoriul cardiac, dar în special în atri. Se consideră că receptorii beta 1 ar media răspunsuri inotrope și cronotrope iar beta 2 mai ales pe cele cronotrope. Densitatea receptorilor beta în miocard diferă cu specia, fiind apreciată în VS la om ca variînd între 30-79 fmol  $\cdot$  mg<sup>-1</sup> (11). Răspîndirea lor nu este uniformă, observîndu-se o densitate mai mare la virful VS la toate speciile (17). Prezența beta receptorilor în ventriculii mai multor specii animale este în concordanță cu părerea că fibrele nervoase simpatică inervează toate zonele inimii (19).

De remarcat este faptul că receptorii beta adrenergici nu se găsesc numai în miocard ci și la nivelul vaselor, subtipurile beta 1 și 2 variînd chiar și în diferitele structuri vasculare (adventițe, musculatură, endoteliu) (fig.nr.1).

*Receptorii muscarinici-colinergici* sînt împărțiți în mod clasic în cele 2 subtipuri M1 și M2 în funcție de afinitatea mai mare, respectiv mai mică pentru antagonistul pirenzepină. Mai recent, luînd în considerare afinitatea față de un nou antagonist M2 așa numitul AF-DX 116, receptorii M2 au putut fi la rîndul lor împărțiți în 2 subclase, astfel încît putem vorbi de fapt de 3 subtipuri M1, M2, M3. Acest lucru a fost confirmat prin clonarea și secvențializarea genelor care codează proteinele respective (3). Receptorii cardiaci aparțin clasei M2 cu mare afinitate pentru AF-DX 116. Problema este complicată de

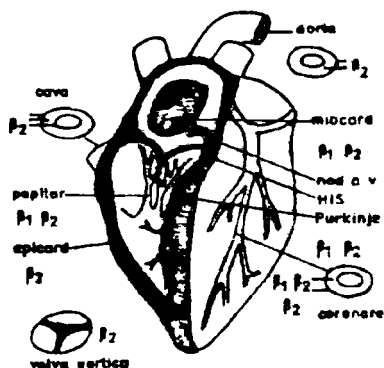


Fig. nr. 1: Localizarea receptorilor beta adrenergici în diferite părți și zone ale inimii.

faptul că există o heterogenitate a receptorilor muscarinici miocardici în funcție de specie (M1 la puii de găină, M2 la șobolani), ca și de faptul că vasele coronare posedă la rândul lor astfel de receptori (de exemplu la porc și la ciine M1 și M2, la bovine M3) localizați la nivelul sarcolemal în musculatura netedă. Receptorii M1 sînt responsabili de redistribuția fluxului sangvin în zonele subendocardice în timpul vasodilatației coronare colinergice, în timp ce M1 și M2 sînt implicați în creșterea perfuziei miocardice (16).

Utilizînd  $C^{11}$  metilquinclidinil benzilatul și tehnica PET s-a putut constata că VS conține un număr mare de receptori muscarinici colinergici comparativ cu VD sau atriile, ceea ce susține ipoteza unei inervații directe parasimpatice a ventriculilor. Acest lucru s-ar realiza pe calea axonilor postganglionari colinergici ai căror corpi celulari își au originea în atriile (21). Eliberarea acetilcolinei la nivelul terminațiilor vagale ventriculare este deci dependentă de activitatea celulelor situate la nivelul atrial avînd atît efecte atriale de tip cronotrop cit și ventriculare de tip inotrop, o frecvență joasă fiind corelată cu o activitate vagală crescută.

La nivelul inimii ca și al vaselor au putut fi puși în evidență și receptori specifici cu mare afinitate pentru benzodiazepine. Folosind ligandul PK 11195 marcat cu  $C^{11}$  ca antagonist al receptorilor benzodiazepinici, s-a putut constata o răspîndire a lor relativ uniformă în miocard, ei fiind situați la nivelul membranei externe a mitocondriilor. Deși funcția acestor receptori nu este prea bine cunoscută, se știe că benzodiazepinele pot interfera cu mișcările  $Ca^{2+}$ . Astfel, studiile experimentale au arătat că PK 11195 antagonizează efectele blocanților canalelor de  $Ca^{2+}$  (diltiazem, nitrendipin, verapamil) ca și ale agonistului BAY K 8644 și inhibă aritmiile produse prin ischemie și reperfuție crescînd fluxul coronar (10).

Implicațiile clinico-farmacologice ale acestor date se dovedesc foarte importante mai ales că de curînd cu ajutorul PET este posibilă urmărirea in vivo și la om a inervației, distribuției și funcționării receptorilor cardiaci (10, 19, 20).

Este deja bine cunoscut faptul că sub influența unor agoniști sau antagoniști ca și în cursul diferitelor afecțiuni cardiace, numărul receptorilor poate scădea (down regulation) sau crește (up regulation) (18). Tratatamentul cu agoniști duce la "down regulation" iar cel cu antagoniști la "up regulation", expunerea prelungită a țesuturilor la catecolamine sau acetilcolină crescînd numărul receptorilor beta adrenergici sau muscarinici colinergici în miocardul ventricular.

Ocluzia coronară tranzitorie se însoțește de creșterea densității alfa și beta receptorilor, în timp ce activitatea adenilat ciclazei scade progresiv. Această creștere poate fi cauza efectelor amplificate ale catecolaminelor la nivelul cordului ischemic. Densitatea crescută a beta receptorilor poate fi inversată dacă se înlătură agentul care a produs leziunea și se restabilește nivelul celular al ATP (12, 18).

Datele recente au adus dovezi că receptorii beta adrenergici pot exista atît la nivelul sarcolemei cit și în citoplasmă (12). În timpul ischemiei miocardice poate avea loc o redistribuire a acestora din interior spre sarcolemă. Rămîne de stabilit dacă atît beta 1 cit și beta 2 receptorii suferă o asemenea distribuție, dar este clar că nu există modificări corespunzătoare ale numărului locurilor muscarinice.

În insuficiență cardiacă congestivă, proporția beta 1 scade concomitent cu creșterea proporției beta 2 receptorilor (5, 6, 7, 13, 15). În fazele finale ale cardiomiopatiei dilatative densitatea beta 1 receptorilor se reduce mult, în timp ce a celor beta 2 rămâne normală (7). Fenomenul de "down regulation" selectiv pentru beta 1 s-ar explica prin aceea că beta 1 receptorii sint inervați fiind asociați cu terminațiile nervoase noradrenergice.

La pacienții cu afecțiuni mitrale, densitatea beta receptorilor crește în atriul comparativ cu ventriculii (11). Proporția relativă a beta 1 și beta 2 receptorilor nu este modificată față de normal dar răspunsul adenilatciclazei la agonistii beta este mai accentuat în ventriculi față de atriul.

La cordul denervat și transplăntat se constată o creștere a densității beta receptorilor dar fără modificarea afinității lor (22), în timp ce la atleți scade (19).

La hipouroidieni există o creștere a densității receptorilor muscarinici, în timp ce la hiperidroidieni nu se observă modificări semnificative (19).

Dar variația densității receptorilor nu reprezintă singurul fapt demn de luat în considerare. Modificările "post receptor" legate de alterările proteinelor G, adenilatciclazei, proteinkinazei pot avea semnificație deosebită (1). Studiul acestora este însă dificil și se află la început fiind realizat mai ales pe limfocite și nu se știe în ce măsură datele sint valabile la miocard (8).

Scăderea răspunsului miocardic la stimularea adrenergică în insuficiență cardiacă congestivă este prin ea însăși nefavorabilă. Efectele favorabile ale agenților beta blocanți ar putea fi explicate prin contracararea fenomenelor de "down regulation" existente la acești pacienți, ceea ce restabilește capacitatea de răspuns a miocardului la stimulii noradrenergici.

În același timp rezistența beta 2 receptorilor la fenomenul de "down regulation" și creșterea proporției lor poate fi folosită terapeutic prin administrarea unui agonist beta 2 selectiv ca agent inotrop (1, 12). Problema este mai complicată deoarece s-a constatat că și tratamentul cu unii antagoniști poate induce fenomenul de "down regulation" (12).

La pacienții cu cardiomiopatie dilatativă, tratamentul cu blocanți selectivi beta 1 (metoprolol) s-a dovedit a avea efecte favorabile, dar ca și în cazurile cu insuficiență cardiacă congestivă, efectele în timp nu sint verificate încă (8,14).

Modificările pe termen scurt ale numărului adrenoreceptorilor cardiaci se produc probabil prin redistribuția receptorilor între suprafața celulară și interiorul celulei și prin modificarea ratei depunerilor intracelulare, inserției la nivelul membranei, degradare și internalizare (12). Refacerea receptorilor adrenergici observată după un tratament cu antagoniști ireversibili a dovedit existența unei rate lente a sintezei lor, aceasta constituind singura cale prin care se poate controla numărul receptorilor pe termen lung (12).

Pentru a influența fenomenul de "down regulation" produs prin administrarea de antagoniști beta, s-a recomandat un tratament intermitent alternant care să permită refacerea receptorilor cu agonisti beta 1 și beta 2, sau perioade de tratament cu antagoniști beta 1 pentru a induce creșterea beta 1 receptorilor și a le reface sensibilitatea, cu menținerea funcției receptorilor beta 2.

Având în vedere că efectele cronotrope și inotrope ale beta receptorilor asupra țesutului cardiac sînt stimulate de o cascadă de reacții enzimatică intracelulară inițiate de activarea proteinkinazelor dependente de cAMP, reglarea răspunsului funcțional la stimularea beta receptoare poate fi realizată la diferite nivele. Astfel de încercări interesante terapeutic au fost realizate utilizînd forskolinul care stimulează activitatea adenilatciclazei direct scurtcircuitînd beta receptorii și cuplarea lor cu adenilatciclaza, ca și prin folosirea inhibitorilor enzimei de conversie ai angiotensinei pentru a stimula beta receptorii (4).

Se conturează deci tot mai clar că noile date asupra răspîndirii și modului de funcționare a receptorilor cardiaci oferă perspective terapeutice încurajatoare bazate pe înțelegerea modului de acțiune a unor medicamente asupra acestor ținte. Determinarea in vivo a gradului de ocupare a receptorilor va permite stabilirea cu precizie a dozajului și duratei tratamentului cu beta blocați.

### Bibliografie

1. *Bogaert M., Fraeyman N.*: Receptor function in heart failure. *Am.J.Med.* 1991, *Suppl. 5B*, 105-135;
2. *Bohm M., Beuckelmann D., Brown L.*: Reduction of beta adrenoreceptor density and evaluation of positive inotropic responses in isolated diseased human myocardium. *Eur. Heart J.* 1988, *9*, 844-852;
3. *Bonner T. et al.*: Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. *Science*, 1987, *237*, 527-533;
4. *Bristow M., Ginsburg R., Minobe W.*: Decreased catecholamine sensitivity and beta adrenergic receptor density in failing human heart. *New Engl. J. Med.* 1982, *307*:205-211;
5. *Bristow M. et al.*: Alfa 1 adrenergic receptors in the nonfailing and failing heart. *J. Pharm. Exp. Ther.* 1988, *247*, 1039-1045;
6. *Bristow M. et al.*: The beta adrenergic receptor-adenylatcyclase complex as a target for therapeutic intervention in heart failure. *Eur. Heart J.* 1989, *Suppl. 53*, 45-54;
7. *Bristow M. et al.*: Beta 1 and beta 2 adrenergic receptor mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Mol. Pharmacol.* 1989, *35*, 295-303;
8. *Brodde O. et al.*: Beta adrenoreceptor regulation in the human heart; can it be monitored in circulating lymphocytes? *Eur. Heart J.* 1989, *Suppl. B*, 2-10;
9. *Brodde O. et al.*: Drug and disease induced changes of human cardiac beta 1 and beta 2 receptors. *Eur. Heart J.* 1989, *Suppl. B*, 38-44;
10. *Charbonneau A., Syrota A., Crousel C.*: Peripheral type benzodiazepine receptors in the living heart characterized by PET. *Circulation*, 1986, *73*, 476-483;
11. *Golf S., Lorstad R., Hansson V.*: Beta adrenoreceptor density and relative number of beta adrenoreceptor subtypes in biopsies from human right atrial, left ventricular and right ventricular myocardium. *Cardiovasc. Res.* 1985, *19*, 636-641;
12. *Jones C., Molenaar P., Summers R.*: New views of human cardiac beta adrenoreceptors. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1989, *21*, 519-535;

13. *Limas J., Limas C., Goldenberg I:* Intracellular distribution of adrenoceptors in the failing human myocardium. *Am. Heart J.* 1989, 117, 1310-1316;

14. *Michel M. et al.:* Selective regulation of beta 1 and beta 2 adrenoceptors in the human heart by chronic beta adrenoceptor antagonist treatment. *Br. J. Pharmacol.* 1988, 94, 685-692;

15. *Murphee S., Saffitz J.:* Distribution of beta adrenergic receptors in failing human myocardium. *Circulation*, 1989, 79, 1214-1225;

16. *Pele L., Gross G., Walter D.:* Changes in regional myocardial perfusion by muscarinic receptor subtypes in dogs. *Cardiovasc. Res.* 1986, 20, 482-489.

17. *Pierpont G., De Maser E., Cohn J.:* Regional differences in adrenergic function within the left ventricle. *Am. J. Physiol.* 1984, 246, H 824-H829;

18. *Strasser R., Krimmer J., Marquetant R.:* Regulation of beta adrenergic receptors impaired desensitization in myocardial ischemia. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1988, Suppl. 1, 515-524;

19. *Syrot A.:* In vivo study of receptors for neuromediators with PET. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* 1986, 13, 127-134;

20. *Syrot A.:* PET evaluation of cardiac receptors, in *Cardiac Imaging*, Eds. Marcus M. et al., W.B. Saunders, Philadelphia, 1990, 1256-1270;

21. *Takahashi N., Barter M., Zipes D.:* Efficient vagal innervation of canine ventricle. *Am. J. Physiol.* 1985, 248, H 89-H97;

22. *Yusuf S., Theodoropoulos S., Mathias C.:* Increased sensitivity of the denervated transplanted human heart to isoprenaline both before and after beta adrenergic blockade. *Circulation*, 1987, 75, 696-704.

kw: cardiovascular system; heart; cardiac receptors;

### Summary

#### NEW VIEWS IN THE EVALUATION OF CARDIAC RECEPTORS

M. Saha

The heart is made up of many different cell types and it is very important to identify which cells possess receptors, what kind of receptors they are, and how they respond to activation acutely and chronically.

Membrane receptors constitute a class of proteins with a high affinity and specificity for ligands involved in the function of ionic channels. Their number and affinity can be modified during ischemia, myocardial infarction, congestive cardiac failure, cardiomyopathies, heart transplant.

Radioisotope techniques, especially positron emissive tomography are now used for in vivo measurements of cardiac receptors. Many cardiac responses can be evoked by stimulation of adrenergic receptors. Short term changes in cardiac adrenoceptor number probably occur by redistribution of receptors between the cell surface and intracellular compartments and by changes in the rates of intracellular storage insertion into plasma membranes, degradation and internalization. Treatment with adrenoceptor antagonists can produce receptor down regulation.

Muscarinic cholinergic receptors were found in a great number in the left ventricle, sustaining the hypothesis of a direct parasympathetic innervation of the left ventricle.

Receptors for benzodiazepines were also found in the myocardium, being correlated with  $Ca^{2+}$  movements.

The clinical and pharmacological implications of these data are very important, especially now when using PET it is possible to search in vivo in humans for the innervation, distribution and functioning of various types of cardiac receptors in health and disease..

---