



OULUN YLIOPISTO
UNIVERSITY of OULU

Kandidaatintutkielma

β -adrenoseptorit ja niiden merkitys astmassa sekä sydänsairauksissa

Jussi Talvitie

Oulun yliopisto
Biokemian ja molekyyliäätieteen tiedekunta
2019

Sisällysluettelo

1. G-proteiinikytkentäiset reseptorit.....	1
2. β -adrenoseptorit	1
2.1. β -adrenoseptorien tehtävät.....	2
2.2. β -adrenoseptorityypeille ominaisia rakenteita.....	3
2.3. β -adrenoseptorien desensitisaatio.....	5
2.4. β -adrenoseptorien rakennevaihtelu	5
3. β -adrenoseptorien agonistit ja antagonistit.....	6
3.1. β -adrenoseptoreihin kohdistuvien lääkkeiden sivuvaikutukset.....	7
3.2. β_1 -adrenoseptorien ligandit.....	7
3.3. β_2 -adrenoseptorien ligandit.....	8
3.4. β_3 -adrenoseptorien ligandit.....	8
4. β -adrenoseptorit ja astma.....	9
4.1. β_2 -adrenoseptorien desensitisaatio ja cAMP:sta riippumattomat signaalireitit	11
4.2. β_2 -adrenoseptorien polymorfia ja astma	12
4.3. β_2 -adrenoseptorit voivat muuttaa konformaatiotaan myös ilman agonistia.....	13
4.4. β_1 ja β_3 -adrenoseptorien rooli astmassa.....	13
5. β -adrenoseptorit ja sydänsairaudet	14
5.1. β_1 -adrenoseptorien signalointi sydämässä.....	15
5.2. β_2 -adrenoseptorien signalointi sydämässä.....	16
5.3. β_3 -adrenoseptorien signalointi sydämässä.....	18
5.4. Sydämen toiminta ja β -adrenoseptorien desensitisaatio	19
5.5. β -adrenoseptorien polymorfia sydänsairauksissa.....	21
6. Lähteet.....	23

1. G-proteiinikytkentäiset reseptorit

Ihmisen genomi sisältää satoja erilaisia G-proteiinikytkentäisiä reseptoreja, jotka osallistuvat monien eri ligandien tuottamiin signaalikaskadeihin (Fredriksson Ym. 2003). Niiden rakenne sisältää seitsemän solukalvon lävistävää α -heliksiä, joiden lisäksi niillä on yksi solunulkoinen N-terminaali ja yksi solunsisäinen C-terminaali. Nimensä mukaisesti G-proteiinikytkentäiset reseptorit signaloivat agonisteilta saamiaan signaaleja niihin linkittyneiden solunsisäisten G-proteiinien avulla. Inaktiivinen G-proteiini on solukalvolla usein omana yksikkönään, eikä se ole aina suoraan sitoutunut reseptoriinsa. G-proteiini on guanosiinukleotidiä sitova heterotrimeerikompleksi, joka koostuu α -, β - ja γ -alaysiköistä. Ne ankkuroituvat solukalvoon β - ja γ -alaysiköidensä avulla ja säätelevät aktiivisuuttaan α -alaysikköön liittyneen guanosiinukleotidin fosforylaatioasteen avulla. Agonistin sitoutuessa G-proteiinikytkentäiseen reseptoriin, reseptorin konformaatio muuttuu ja G-proteiinin α -alaysikkö aktivoituu siihen liittyneen guanosiinidifosfaatin (GDP) vaihtuessa guanosiinitrifosfaatiksi (GTP). Aktivoidun G-proteiinin α -alaysikkö irtoaa sen β - ja γ -alaysiköistä, jonka jälkeen GTP:hen sitoutunut α -alaysikkö aktivoi seuraavana signaalikaskadissa olevan efektorimolekyylin. G-proteiinikytkentäiset reseptorit säätelevät soluissa monia toimintoja ja G-proteiinin kohteena oleva efektorimolekyylillä voi olla esimerkiksi syklistä adenosiinimonofosfaatin (cAMP) määrää nostava adenylaattisyklaasi, fosfolipaasi tai eri ionien konsentraatioita solussa säätelevä ionikanava (Murray Ym. 2009).

2. β -adrenoseptorit

G-proteiinikytkentäiset reseptorit luokitellaan viiteen eri luokkaan niiden geenien konservoituneisuuden perusteella. G-proteiinikytkentäisten reseptorien A-luokka on näistä suurin sekä eniten tutkittu ja se voidaan jakaa vielä reseptorien ligandiselektiivisyyden mukaan eri alaryhmiin. Näistä alaryhmistä etenkin amiini-ligandeille selektiiviset β -adrenoseptorit ovat farmakologisesti erittäin tärkeitä ja mutaatiot näiden reseptorien geneeissä on yhdistetty moniin sairauksiin (Cherezov Ym. 2007; Taylor 2007). β -adrenoseptorit, eli β -adrenergiset reseptorit ovat G-proteiinikytkentäisiä reseptoreita, jotka ohjaavat soluissa monia katekoliamiinien tuomia signaaleja. β -adrenoseptoreita nähdään monissa eri kudoksissa ja niitä koodaa kolme eri geeniä, jotka tuottavat β_1 -, β_2 - ja β_3 -adrenoseptoreita. Tietty β -adrenoseptori on kuitenkin yleensä kudosspesifinen, eli tietyn β -adrenoseptorin ekspressointi korostuu tietyissä kudostyypeissä. Silti

eri kudoksista voidaan yleensä havaita useita eri β -adrenoseptoreita, jotka signaloivat erilaisia signaalikaskadeita (Loewy & Spyer 1990).

β -adrenoseptorit voivat välittää hyvin erilaisia signaalikaskadeja ja signaalireittien tyyppi on usein riippuvainen myös kudostyyppistä. Tavallisesti β -adrenoseptorit kuitenkin signaloivat stimuloimalla adenylaattisyklaasia, jolloin agonistin vuorovaikutuksen seurauksena aktivoitunut β -adrenoseptori aktivoi siihen kytketyn Gs-proteiinin $G\alpha$ -alaysikön. Tämä $G\alpha$ -proteiini puolestaan stimuloi adenylaattisyklaasia katalysoimaan solunsisäisen toisiolähetin, syklisen adenosiinimonofosfaatin (cAMP) tuottoa adenosinitrifosfaatista (ATP). Lisääntynyt cAMP-molekyylin tuotto aktivoi moniin signaalikaskadeihin osallistuvaa proteiinikinaasi A:ta (PKA), jonka aktiivisuutta voidaan lokalisoida eri soluosastoihin erilaisten ankkuriproteiinien avulla (Wallukat 2002; Loewy & Spyer 1990). β -adrenoseptorien aktivaatio ei kuitenkaan aina johda cAMP:n nousuun vaan ne voivat olla linkitettyinä myös G_i -proteiiniin, joka inhiboi adenylaattisyklaasia tai G_q -proteiiniin, joka puolestaan stimuloi fosfolipaasi C:tä (Small ym. 2003). β -adrenoseptorit signaloivat myös siihen liittyvän β -arrestiin avulla ja joidenkin ligandien on havaittu aiheuttavan soluissa myös monia päällekkäisiä signaalikaskadeja, mikä osaltaan selittää myös β -adrenoseptoreihin kohdistuvien lääkkeiden tuomia sivuvaikutuksia (Reiter Ym. 2012).

2.1. β -adrenoseptorien tehtävät

β_1 -adrenoseptoreita voidaan havaita pääasiassa sydänlihaksessa, jossa ne osallistuvat sydänlihaksen pumppausnopeuden ja supistuvuuden säätelyyn (Brodde 1991). Sydämessä β_1 -adrenoseptorit kytkeytyvät muidenkin β -adrenoseptoreiden tapaan adenylaattisyklaasia stimuloivaan Gs-proteiiniin ja niiden sydämen toimintaa stimuloiva vaikutus nähdään etenkin cAMP-molekyylin sekä proteiinikinaasi A:n välittämien signaalikaskadien kautta. β -adrenoseptoreiden signalointi ei kuitenkaan ole aina niin mustavalkoista ja myös β_1 -adrenoseptorit välittävät signaalejaan monien eri mekanismien kautta (Lorenz Ym. 2012). β_1 -adrenoseptorit voivat perinteisen syklisen AMP-molekyylin sijaan välittää signaalejaan mm. β -arrestiin kautta ja vaikuttaa täten myös sydänsoluja suojaaviin mekanismeihin (Noma Ym. 2007).

β_2 -adrenoseptori on rakenteellisesti hyvin samankaltainen β_1 -adrenoseptoreiden kanssa, mutta niiden toiminnassa ja kudosspesifisyydessä voidaan kuitenkin havaita selkeitä eroja. β_2 -adrenoseptoreita tavataan etenkin keuhkoputken sileän lihaskudoksen soluissa, jossa niiden

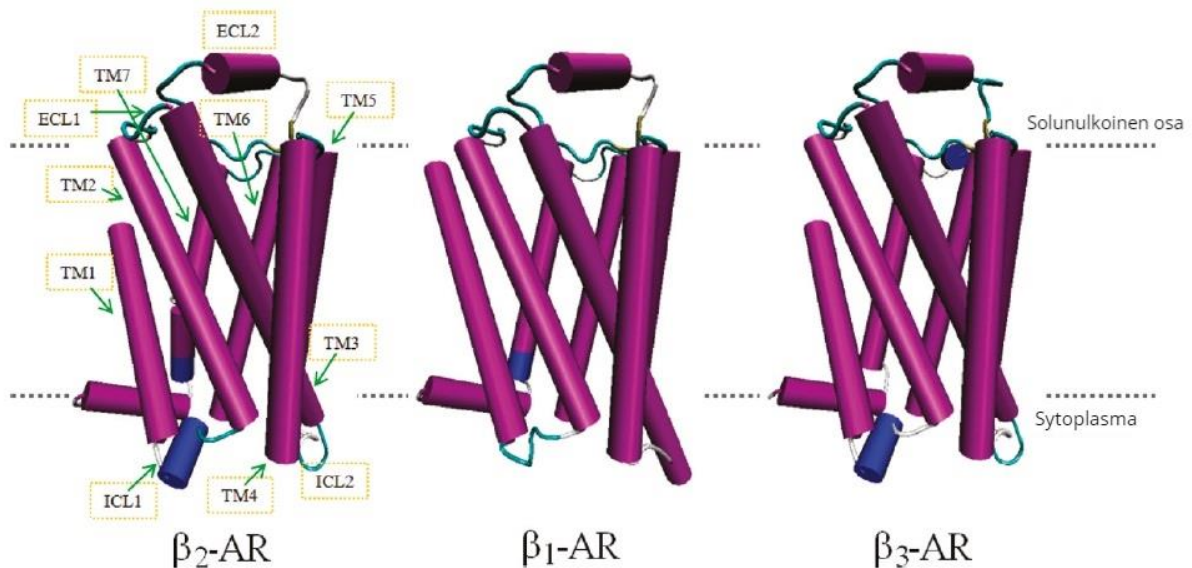
aktivointi vaikuttaa sileänlihaksiston relaksaatioon ja täten myös keuhkoputken vasodilaatioon (Taylor 2007). Sileässä lihassolukossa β_2 -adrenoseptorien vasodilaatiota välittävä signaali kulkee β_1 -adrenoseptoreiden tapaan pääasiassa cAMP-molekyylin ja proteiinikinaasi A:n kautta, jossa PKA:n kinaasiaktiivisuus vaikuttaa moniin eri lihassupistuksen efektorimolekyyleihin (Billington Ym. 2017).

β_3 -adrenoseptoreita tavataan pääasiassa rasvakudoksessa, mutta niiden on havaittu ohjaavan myös suoliston sekä sydämen supistumista. Myös β_3 -adrenoseptorien signaalikaskadi kulkee adenylaattisyklaasin ja cAMP:n välittämänä ja rasvakudoksessa se ohjaa pääasiassa termogeneesiä sekä lipolyysiä (Skedebriis 2004), vaikkakin Michel Ym. (2010) mukaan β_3 -adrenoseptorien näitä prosesseja ohjaava vaikutus ei ehkä ole niin merkittävää ihmisillä kuin jyrsijöillä. Aikaisempien tutkimusten mukaan β_3 -adrenoseptorien geenimuutokset on kuitenkin yhdistetty ihmisten painonnousuun, diabetekseen (Fujisawa 1996) sekä rasva-aineenvaihduntaan (Krief Ym. 1993). Painonnousulla ja β_3 -adrenoseptorien mutaatioilla voi olla merkitystä myös astmaan, joskin selvän yhteyden selittäminen näiden välille vaatisi vielä lisätutkimuksia (Kuo Ym. 2014). Lisäksi, uusimpien tutkimusten mukaan β_3 -adrenoseptorien signalointi voisi vaikuttaa myös sydämen toiminnan säätelyyn, jossa sen on havaittu linkittyvän useimmin Gi-proteiineihin ja signaloivan sen avulla useita sydänsoluja suojaavia mekanismeja (Yang & Tao 2018; Cannavo & Koch 2016).

2.2. β -adrenoseptorityypeille ominaisia rakenteita

Kaikilla β -adrenoseptoreilla on suhteellisen konservoitunut, seitsemän transmembraanisen ja solunulkoisen N-terminaalien sekä solunsisäisen C-terminaalien sisältävä rakenne (Steinberg 2018). Muidenkin G-proteiinien tapaan β -adrenoseptoreiden seitsemää transmembraanista rakennetta yhdistää yhteensä kolme solunulkoista silmukkaa sekä kolme solunsisäistä silmukkaa (Roy & Saxena 2011). β -adrenoseptoreilla on noin 51 %:n homologia niiden transmembraanisten osien välillä (Warne Ym. 2008). Toisaalta, vaikka sekvenssianalyysien mukaan kaikkien kolmen β -adrenoseptorien solua läpäisevien osien sekvenssit muistuttavatkin toisiaan, ne eroavat toisistaan solunsisäisten ja ulkoisten silmukoiden järjestäytymisessä (Roy & Saxena 2011). Suurimmat erot G-proteiinikytkentäisten reseptorien välillä ilmenevät etenkin solunulkoisissa silmukoissa sekä ligandin sitomiskohdissa. β -adrenoseptoreille on tyypillistä myös niiden N-glykosyloitu N-terminaali, mikä auttaa reseptorin liittymisessä solukalvoon ja edistää agonistien liittymistä reseptorin solunulkoiseen osaan. Translaation jälkeisten modifikaatioiden aikana β -adrenoseptorit

myös palmitoyloidaan niiden C-terminaalissa, mikä on tärkeää C-terminaalin kiinnittymiselle solukalvoon (Mialet-Perez Ym. 2004; Strosberg 1993). Lisäksi, kaikkien β -adrenoseptorien solunulkoisessa silmukassa numero kaksi on α -heliksi, jossa on hyvin konservatoitunut kysteiini-aminohappojen muodostama disulfidirakenne ligandin sitomiskohdan stabiloimiseksi (Kuva 1; Roy & Saxena 2011).



Kuva 1. β -adrenoseptoreiden rakenne. TM = transmemraarinen rakenne, ELC = solunulkoisen silmukka ja ILC = solunsisäinen silmukka. Kaikki β -adrenoseptorit sisältävät seitsemän solukalvon läpäisevää rakennetta ja niillä on kolme solun ulkoista sekä solun sisäistä silmukkaa (Kuva ja teskti muokattu lähteestä Roy & Saxena 2011).

Vaikka β -adrenoseptorit ovatkin hyvin samankaltaisia, suurimmat erot niiden välillä nähdään β_3 -adrenoseptorien kohdalla. Pääasiassa rasvakudoksessa tavattavat β_3 -adrenoseptorit poikkeavat β_1 - ja β_2 -adrenoseptoreista sekä farmakologisesti että rakenteellisesti. Kuten β_1 - ja β_2 -adrenoseptoreilla myös β_3 -adrenoseptorilla on solunulkoisen glykosyloitu N-terminaali, mutta sen solunsisäisessä C-terminaalissa ei ole proteiinikinaasi A:n tai β -adrenoseptorikinaasin (β ARK) fosforylointia mahdollistavaa kohtaa (Skedebriis Ym. 2004). Lisäksi β_3 -adrenoseptorit ovat ainoita β -adrenergisiä reseptoreja, joiden geenit sisältävät silmukointia mahdollistavia introneja. Ihmisen β_3 -adrenoseptoria koodaavasta geenistä on löytynyt kaksi varianttia, josta toinen sisältää kaksi ja toinen vain yhden intronin. Joskin yhden intronin sisältävä β_3 -adrenoseptorigeeni on yleisesti hyväksytympi ja sen on ajateltu tuottavan kahta erilaista reseptoria, jotka eroavat toisistaan etenkin C-terminaalista osastaan (Yang & Tao 2018). Sama ilmiö voidaan nähdä myös rotilla ja

hiirillä, joiden β 3-adrenoseptorigeenistä on löydetty kaksi intronia, minkä on havaittu tuottavan kahta erilaista β 3-adrenoseptorityyppiä. Näiden β 3a- sekä β 3b-adrenoseptorien ekspressio vaihtelee kudoksien välillä (Evans Ym. 1999) ja β 3a-adrenoseptorien on huomattu linkittyvän usein Gs-proteiineihin, kun taas β 3b-adrenoseptorit vuorovaikuttavat Gs- ja Gi-proteiinien kanssa (Hutchinson Ym. 2002).

2.3. β -adrenoseptorien desensitisaatio

β -adrenoseptoreilla on myös desensitisaatiota aiheuttavia itsesäätelymekanismeja, joskin myös desensitisaatioon vaikuttavissa mekanismeissa voidaan havaita eroja eri β -adrenoseptoreiden välillä. β -adrenoseptoreiden desensitisaatiomekanismien välillä on vaihtelua, mutta sen päätarkoitus on ehkäistä agonistin ja reseptorin välisiä vuorovaikutuksia. Desensitisaation ansiosta agonistit eivät voi enää stimuloida niille ominaisia signaalikaskadeja, mikä osaltaan auttaa soluja myös ehkäisemään katekoliamiinien ylistimuloinnin tuomia haittavaikutuksia (Johnson 2006). Desensitisaatio voi toisaalta aiheuttaa myös agonistien toleranssia, jolloin myös lääkkeiden vaikutus laskee merkittävästi. β -agonistien desensitisaation on havaittu välittyvän kolmen, joskus päällekkäistenkin mekanismien seurauksena, jossa reseptori menettää signaalintikykyään kinaasi entsyymien fosforylaation aiheuttaman G-proteiinin signaaliketjusta irtoamisen, transmembraanisen reseptorin sisälle menon ja uusien reseptorien ekspressoinnin inhiboitumisen johdosta (Shore & Moore 2003; Rosethorne Ym. 2015). Homologinen desensitisaatio on agonistin aktivaatiosta riippuvainen desensitisaatiomekanismi, jossa G-proteiinin kinaasientsyymit (GRK) fosforyloivat joko reseptoria tai siihen linkitettyä G-proteiinia. Homologisessa desensitisaatiossa aktiivisen reseptorin konformaatiomuutos indusoi fosforylaatiota, kun taas heterologisessa desensitisaatiossa fosforylointi on riippuvainen reseptorin toisioläheteistä. Nämä toisiolähetit kuten cAMP-molekyylit ja sen aktivoima proteiinkinaasi A, voivat muodostua myös ilman agonistin liittymistä kyseiseen reseptoriin ja reseptori voi täten fosforyloitua PKA:n toimesta myös ilman ligandin tuomaa aktivaatiota (Madamanchi 2007).

2.4. β -adrenoseptorien rakennevaihtelu

β -adrenoseptoreiden signaloinnin tutkimuksissa on viimeaikoina kiinnitetty huomiota myös niiden polymorfian vaikutuksiin. Geenin DNA sekvenssin vaihtelua kutsutaan polymorfiaksi, kun tiettyä

geeniä koodaavan alleelin harvinaisempi muoto ilmenee populaatiossa yli 1 %:n frekvenssillä. Yksi yleisin polymorfiaa aiheuttava mekanismi on yhden emäksen polymorfia, eli snippi (SNP), joissa sekvenssimuutos tapahtuu yhden nukleotidin pistemuutoksen seurauksena. Polymorfiaa tavataan populaatiossa suhteellisen usein, eikä polymorfialla ole aina merkittäviä kliinisiä vaikutuksia. Niiden esiintymisellä voi kuitenkin olla vaikutusta sairauksien syntyyn ja täten ne voivat toimia riskitekijöinä erilaisiin sairauksiin sekä tuoda vaihtelua esimerkiksi lääkkeiden vasteisiin. (Small Ym. 2003). β -adrenoseptoreita koodaavien geenien sekvenssieroja voidaan havaita etenkin eri etnisten ryhmien välillä, mikä voi rakennevaihteluiden kautta vaikuttaa myös β -adrenoseptoreiden toimintaan. Sekvenssierot N-terminaalia koodaavassa sekvenssissä voivat tuoda vaihtelua β -adrenoseptoreiden ligandiaffiniteeteille ja täten muunnella myös reseptorien aiheuttamia signaalikaskadeja. Reseptorin solunsisäisiä osia koodaavien sekvenssimuunnosten on huomattu aiheuttavan vaihtelua β -adrenoseptoreiden kyvyssä vaikuttaa niihin linkitettyihin G-proteiineihin. Lisäksi sekvenssimuutokset voivat vaikuttaa β -adrenoseptoreiden signalointiin muuttamalla geenin ekspressointia säätelevää aluetta ja täten vaikuttaa signaalien vahvuuteen vaihtelemalla solujen β -adrenoseptorien tuottoa (Ahles & Engelhard 2014).

3. β -adrenoseptorien agonistit ja antagonistit

β -adrenoseptoreita ekspressoidaan monissa eri kudoksissa ja niiden signaloinnilla on suuri merkitys kehon normaalin homeostaasin ylläpitämisessä. Häiriöt reseptorien toiminnassa on liitetty moniin eri sairauksiin ja siksi β -adrenoseptorit ovatkin monien synteettisten agonistien ja antagonistien kohde. Antagonistit voidaan jakaa neutraaleihin antagonisteihin ja käänteisagonisteihin, jossa neutraalit antagonistit blokkaavat agonistien vuorovaikutukset reseptorien kanssa. Neutraaleilla antagonisteilla ei siis ole fysiologisia vaikutuksia agonistien poissaollessa, kun taas käänteisagonistit muuttavat reseptorit inaktiiviseen muotoon (Kurose 2004). Agonistit voidaan jakaa osittaisagonisteihin sekä täysagonisteihin, joiden vaikutuserot ilmenevät reseptorin aktivaation vahvuuden lisäksi myös reseptorin desensitisaatiossa. Vaikka osittaisagonistit eivät täysagonistien tapaan täysin aktivoi reseptoreja, niiden on havaittu aiheuttavan vähemmän reseptorin signaalia vaimentavaa desensitisaatiota. Tämä on tärkeä seikka etenkin lääkkeiden suunnittelussa, sillä vaikka täysagonistit aiheuttavatkin suuremman vasteen, ne myös vähentävät reseptorin aktivaatiota desensitisaation kautta (Landsberg 2018). Lisäksi eri agonistien välillä on myös toiminnallista selektiivisyyttä, jolloin eri agonistit voivat aiheuttaa

samassakin reseptorissa erilaisen signaalikaskadin (Kenakin 2013). Monet synteettiset adrenergiset agonistit muistuttavat rakenteeltaan endogeenistä adrenaliinia, jota eritetään verenkiertoon lisämunuaisista. Adrenaliinia ja muita endogeenisiä katekoliamiineja tuotetaan tyrosiinista, joka hydroksyloidaan dihydroksifenyylialaniiniksi ja josta saadaan dekarboksyloinnin jälkeen dopamiinia. Muodostunut dopamiini β -hydroksyloidaan noradrenaliiniksi, josta saadaan N-metylaatiolla adrenaliinia. Dopamiinia ja sen johdannaisia adrenaliinia sekä noradrenaliinia kutsutaan katekoliamiineiksi, koska ne sisältävät aminoryhmän lisäksi katekoliryhmän (Landsberg 2018). Kaikkien kolmen β -adrenoseptorin onkin havaittu sisältävän hyvin konservoituneita osia, jotka muodostavat vetysidoksia katekoliamiinien hydroksyyli ryhmien kanssa (Roy & Saxena 2011).

3.1. β -adrenoseptoreihin kohdistuvien lääkkeiden sivuvaikutukset

Etenkin ensimmäiset lääkekäyttöön tarkoitetut β -agonistit vaikuttivat kohdereseptorinsa lisäksi myös muihin β -adrenoseptoreihin, jolloin lääkkeiden tuomat sivuvaikutukset olivat aika huomattavia. Kuitenkin myös nykyaikaisilla selektiivisillä β -agonisteilla on sivuvaikutuksia, joista merkittävimpiä ovat takykardia, vapina sekä hengitysteiden yliherkkyys erilaisille allergeeneille. Etenkin astmaa on jo pitkään hoidettu selektiivisillä β -agonisteilla ja uusien lääkkeiden kehittäminen onnistunut kitkemään monia sivuvaikutuksia. Monia ennalta-arvaamattomia sivuvaikutuksia on kuitenkin vaikea ehkäistä ja myös β -adrenoseptoreihin kohdistuvien lääkemolekyylien enantiomeerien on ajateltu vaikuttavan sivuvaikutuksiin, joskin tämä on yhä kiistanalaista (Sears 2002).

3.2. β_1 -adrenoseptorien ligandit

β_1 -adrenoseptoriagonisteja on perinteisesti käytetty sydämen toiminnan tehostamiseen esimerkiksi rasisurintakivun hoidossa, kun taas selektiivisiä β_1 -adrenoseptorin antagonisteja, eli β -salpaajien sydämen toimintaa vaimentavan ja täten myös sen hapenkulutusta vähentävää vaikutusta on hyödynnetty etenkin sydämen vajaatoiminnan sekä rytmihäiriöiden hoitoon (Hershberger 1994; Baker Ym. 2017). β_1 - ja β_2 -adrenoseptorien transmembraaniset osat ovat hyvin samankaltaiset, mutta alueet, jotka ympäröivät niiden ligandien liittymiskohtaa näyttäisivät olevan lähes identtiset (Warne Ym. 2008). Täysin β_1 -adrenoseptoreille selektiivisten antagonistien kehittäminen onkin ollut suhteellisen vaikeaa, koska niiden on usein havaittu vaimentavan myös

β 2-adrenoseptorien toimintaa, mikä voi olla haitallista etenkin β -salpaajia käyttävien astmaatikoiden parissa (Baker Ym. 2017). Tästä huolimatta näiden reseptorien ligandispesifisyydessä voidaan havaita eroja ja β 1-adrenoseptoreiden on huomattu omaavan suuremman affiniteetin esimerkiksi noradrenaliinin suhteen (Molinoff 1984). β 1-adrenoseptorien toiminta reagoi paremmin myös isompiin antagonisteihin (Warne Ym. 2008), joskin β 1-adrenoseptorit voivat Baker Ym. (2003) mukaan sisältää kaksi ligandin sitoutumiskohtaa, mikä voidaan havaita β -salpaajien resistenssinä tiettyjen selektiivisen agonistien läsnäollessa.

3.3. β 2-adrenoseptorien ligandit

Selektiivisiä β 2-adrenoseptorin agonisteja käytetään etenkin astman ja keuhkohtaumataudin oireiden lievittämiseen. Nämä agonistit voidaan jakaa kolmeen alatyypin niiden vaikutuksen keston perusteella. Lyhyen vaikutusajan ja nopean puoliintumisajan omaavat β -agonistit vaikuttavat reseptoreihin muutamia tunteja, kun taas pitkän vaikutusajan agonistit vaikuttavat reseptoreihin yli 12 tuntia ja erittäin pitkän vaikutusajan agonistien vaikutusaika on yli vuorokauden. Viimeksi mainittujen agonistien pitkän vaikutusajan ei ole havaittu johtuvan reseptorin kinetiikasta, vaan niiden retentioajan kasvusta solukalvolla, joka taas kasvattaa agonistien ja reseptorien välistä vuorovaikutusaikaa. Pitkän vuorovaikutusajan omaavat agonistit ovat tehokkaita etenkin vaikean astman hoidossa, mutta toisaalta pitkä vaikutusaika voi myös lisätä mahdollisten haittavaikutusten määrää (Billington Ym. 2017).

3.4. β 3-adrenoseptorien ligandit

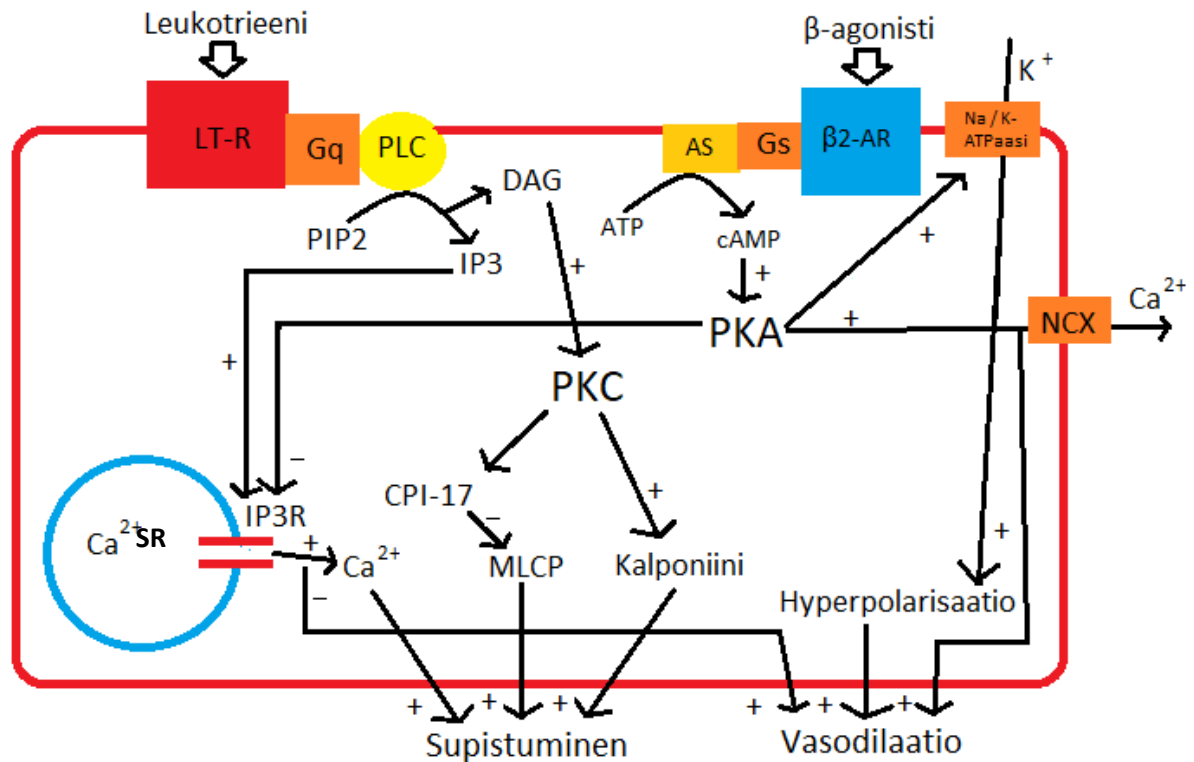
β 3-adrenoseptorin lipolyysiä sekä termogeneesiä ohjaava vaikutus on innoittanut tutkijoita kehittämään selektiivisiä β 3-adrenoseptorin agonisteja liikalihavuuden sekä diabeteksen hoitoon, joskin näiden hankkeiden tulokset ovat olleet osin ristiriitaisia (Souza & Burkey 2001). β 3-adrenoseptorin on kuitenkin havaittu säätelevän merkittävästi myös sydämen toimintaa ja selektiivisillä β 3-adrenoseptoriagonisteilla yhdistettynä β 1-antagonisteihin voitaisiin hoitaa mm. sydämen vajaatoimintaa. Selektiiviset β 3-adrenoseptorien ligandit sisältävät negatiivisesti ionisoitavan aminoryhmän lisäksi usein myös aryyli-ryhmän, joka on kiinnittyneenä β -hydroksyyli ryhmään. Suurin osa synteettisistä β 3-adrenoseptorille selektiivisistä ligandeista ei kuitenkaan sisällä adrenaliinilla nähtävää katekoli-ryhmää ja niiden ranteista voidaan havaita usein pyrimidiini

ja klooribentseeniryhmiä, mikä osoittaa, että β_3 -adrenoseptorit voivat ligandin liittymiskohdassaan sitoa molekyyliä muista β -adrenoseptoreista eroavalla tavalla (Roy & Saxena 2011).

4. β -adrenoseptorit ja astma

Astma on sairaus, joka aiheuttaa keuhkoputkien ahtautumista limakalvojen kroonisen tulehduksen seurauksena. Astma aiheutuu immuunijärjestelmän reaktioista, jossa yliaktiivinen immuunipuolustus ylireagoi vaaratontakin antigeeniä vastaan. Allergeeni esitellään T-lymfosyyteille dendriittisolujen avulla, jolloin T-solut alkavat erittämään erilaisia sytokiineja, jotka puolestaan stimuloivat granulosyyttejä erittämään tulehdustekijöitä. T-solujen erittämät sytokiinit aktivoivat myös B-soluja erittämään immunoglobiini-E:tä, joka myös osaltaan lisää erilaisten tulehdustekijöiden kuten leukotrieenien vapautumista syöttösoluista. Nämä tulehdustekijät saavat aikaan astmalle tyypillisiä oireita kuten ylimääräistä turvotusta, liman eritystä ja keuhkoputken ahtautumista (Kuva 2). Astmaatikoiden keuhkoputkien supistumisen on havaittu olevan erityisen herkkiä esimerkiksi histamiinille, metakoliinille ja adenosiinimonofosfaatille (Holgate & Douglass 2010; Wenzel 2003). Histamiinin ja muiden antigeenien indusoima sytokiinien kuten tuumorinekroositekijä alfan (TNF- α) sekä interleukiinien (IL1, IL-5 ja IL-13) vapautumisen on havaittu myös suoraan vähentävän sileiden lihassolujen kykyä relaxoitua ja tuottaa syklistä AMP:tä. (Shore 2002). Vaikka astman patologiaa ei voidakaan selittää yksin β -adrenoseptorien toiminnalla, β -agonistien aiheuttaman vasteen on havaittu olevan pienempi astmaatikoilla suhteessa terveisiin ihmisiin (Bai 1992). Mikä voi toisaalta johtua myös astman hoidossa käytettävien β_2 -agonistien aiheuttamasta β_2 -adrenoseptorien desensitisaatiosta (Barisione Ym. 2010). Etenkin keuhkoputken lihaksiston vasodilaatiota stimuloiva β_2 -adrenoseptori on ollut tärkeässä roolissa astman hoidossa ja agonistin tuoman signaalin on havaittu stimuloivan hengitysteiden vasodilaatiota pääasiassa cAMP-PKA-signaalikaskadin välityksellä. Syklisen AMP-molekyylin aktivoima proteiinikinaasi A inhiboi lihaksen supistumista aiheuttavaa myosiinin kevytketjun kinaasientsyymiä (MLCK) sekä inaktivoi inositolitrisfosfaatti-reseptoria (IP3R), mikä vähentää solunsisäisen Ca^{2+} -konsentraation nousua ja täten myös lihaksen supistumista (Billington Ym. 2017). Aktiivinen proteiinikinaasi A voi inhiboida lihaksen supistumista myös fosforyloimalla lämpöshokkiproteiinia (Hsp20), joka estää lihassolujen supistumista vaikuttamalla sarkomeerien myofibrilleihin (Salinthonne Ym. 2008). Lisäksi PKA voi kinaasiaktiivisuudellaan stimuloida myös

natrium/kalsium-vaihtajaa (NCX) sekä Na^+/K^+ -ATPaasia, mikä myös osaltaan vähentää solun sisäisen Ca^{2+} -ionien määrää ja aiheuttaa solun supistumista inhiboivaa hyperpolarisaatiota (Kuva 2; Barisione Ym. 2010).



Kuva 2. β -agonistien sekä leukotrieenien signalointia hengitysteiden soluissa. Leukotrieenit aiheuttavat hengitysteiden supistumista leukotrieeni reseptorien (LT-R) sekä sen aktivoiman fosfolipaasi C:n (PLC) aktivaation avulla. Fosfolipaasi C muodostaa fosfatidyylinositoli-4,5-bisfosfaatista (PIP2) proteiinkinaasi C:tä (PKC) stimuloivaa diacyyliglyserolia (DAG), joka johtaa lihassolun supistumiseen myosiinin kevytketjun kinaasientsyymien (MLCP) sekä kalponiinin kautta. Aktiivinen fosfolipaasi C stimuloi lihassupistusta myös muodostamalla IP3-reseptoria aktivoivaa inositolitrisfosfaattia (IP3), mikä tehostaa Ca^{2+} -ionien kulkua sarkoplasmisesta retikkelistä (SR) sytoplasmaan. β -agonistien aktivoima β 2-adrenoreseptori stimuloi siihen kytkettyä Gs-proteiinia, mikä puolestaan aktivoi adenylaattisyklaasia tuottamaan proteiinkinaasi A:tta (PKA) aktivoivaa syklistä adenosiinimonofosfaattia (cAMP). Aktiivinen PKA-entsyymi stimuloi vasodilaatiota inhiboimalla IP3-reseptoria ja stimuloimalla natrium/kalsium-vaihtajaa (NCX) sekä hyperpolarisaatiota aiheuttavaa Na^+/K^+ -ATPaasia (Kuva muokattu lähteestä Barisione Ym. 2010, teksti lähteistä Billington Ym. 2017; Barisione Ym. 2010).

4.1. β 2-adrenoseptorien desensitisaatio ja cAMP:sta riippumattomat signaalireitit

Agonistin liittyminen aiheuttaa reseptorin desensitisaatiota erilaisten entsyymien kinaasiaktiivisuuden avulla. Agonistin liittyminen β 2-adrenoseptoriin aktivoi mm. proteiinikinaasi A:ta sekä G-proteiinikytkentäistä reseptorikinaasia (GRK) fosforyloimaan reseptorin solunsisäisiä osia. Proteiinikinaasi A fosforyloi β 2-adrenoseptorin kolmannen sytoplasman puoleisen silmukan seriini-aminohappoja, kun taas GRK desensitisoii β 2-adrenoseptoreita fosforyloimalla useita reseptorin solunsisäisiä seriini- ja tyrosiini-aminohappoja. Fosforylointi saa aikaan β -arrestiin liittymisen reseptoriin, joka johtaa signaalin vaimenemiseen reseptorin irtautuessa Gs-proteiinista. β -arrestiini vaikuttaa reseptorin desensitisaatioon myös irrottamalla reseptorin sen solunulkoisesta osasta, sekä stimuloimalla signaalikaskadeja, jotka aktivoivat reseptorin signaalia vaimentavia entsyymejä. Reseptorin signaalia vaimentavia entsyymejä ovat esimerkiksi fosfodiesterasit, jotka rekrytoidaan solukalvolle hajottamaan adenyylaattisyklaasin tuottamia cAMP-signaalimolekyylejä. Lisäksi β 2-adrenoseptorin desensitisaatiota aiheuttaa myös β 2-adrenoseptorien hajotukseen osallistuva ubikitinaatioligaasi, joka ubikitinoi reseptorin proteasomin hajotusta varten (McGraw & Liggett 2005; Krupnick & Benovic 1998).

Pitkittynyt β 2-adrenoseptorien stimulointi johtaa reseptorin desensitisaatioon ja täten myös signaalin vaimenemiseen. Astman hoidossa onkin tärkeää pitää lääkannokset sopivan suuruisina, sillä liiallisella β 2-adrenoseptorien agonistien nauttimisella on usein astman oireita pahentava vaikutus (Sears & Taylor 1994). Desensitisaation tuoman signaalin vaimenemisen lisäksi β 2-adrenoseptorien stimuloinnin on myös havaittu aktivoivan lihassupistusta stimuloivan Ca^{2+} -konsentraation nousua aktivoimalla fosfolipaasi C -entsyymiä, mikä on aika ristiriitaista sen vasodilaatiota stimuloivan ilmiön kanssa. Toisaalta tämä osoittaa, että vaikka β 2-adrenoseptorit voivatkin säädellä solun vasteita monilla päällekkäisillä signaalireiteillä, β 2-adrenoseptorien vasodilaatiota aiheuttava signaalireitti on näistä dominoivin (Johnson 2006; McGraw Ym. 2003). Nämä päällekkäisetkin signaalikaskadit on kuitenkin hyvä ottaa huomioon etenkin lääkkeiden kehittäessä, sillä ne voivat aiheuttaa erilaisia sivuvaikutuksia. Päällekkäiset signaalikaskadit voivat olla erityisen vaarallisia silloin, kun niiden tarkkaa signaalireittiä ei tunneta ja esimerkiksi tämä aktiivisen fosfolipaasi C:n ja sen tuottaman IP3:n aiheuttama Ca^{2+} -konsentraation nousu voi ilmetä solussa myös ilman G-proteiinien stimulointia ja tavanomaisesta cAMP-välitteisestä signaalikaskadista poikkeavalla tavalla (Galaz-Montoya Ym. 2017; Sears 2002).

4.2. β 2-adrenoseptorien polymorfia ja astma

β 2-adrenoseptorille selektiivisiä agonisteja on syntetisoitu lääkekäyttöön useita kymmeniä, mutta liiallisen käytön on kuitenkin huomattu aiheuttavan toleranssia, mihin voi eri agonistien tuoman desensitisaation lisäksi vaikuttaa myös β -adrenoseptorin geneettinen polymorfia. Ihmispopulaatiossa on havaittu kolmeatoista eri β 2-adrenoseptorin varianttia (Ahles & Engelhard 2014), joskin kaikkia näistä muunnelmista ei voida laskea polymorfiaksi, sillä ne esiintyvät populaatiossa on alle 1 %:n frekvenssillä. Suurimmalla osalla geneettisistä muunnelmista ei ole myöskään vaikutusta reseptorin proteiinirakenteeseen. Fysiologisia muutoksia aiheuttavien polymorfioiden on havaittu kohdistuvan ainakin β 2-adrenoseptorien Gly16-, Gln27- ja 164Thr-aminohappoihin, joiden harvinaisimmissa alleeleissa havaitaan Arg16-, Glu27- ja Ile164-aminohapot (Reihsaus Ym. 1993; Ahles & Engelhard 2014). Yleisimmin polymorfiaa havaitaan aminohapoissa numero 16 ja 27, joskin niiden N-terminaalinen sijainti ei ole agonistin liittymisen kannalta merkittävässä paikassa. Niiden polymorfian on kuitenkin huomattu vaikuttavan reseptorin vaimennussäätelyyn, jossa Arg16:n (arginiini) vaihtuminen Gly16:een (glysiini) vahvistaa reseptorin vaimennussäätelyä, kun taas Gln27:n (glutamiini) vaihtuminen Glu27:een (glutamiinihappo) eliminoi vaimennussäätelyn lähes kokonaan. Vaimennussäätelyä inhiboiva Gln27Glu-polymorfia estää reseptorin laskostumista normaaliin muotoonsa, mikä ehkäisee proteiinin hajottamista (Green 1994). Vaikka β 2-adrenoseptoreiden aminohapon numero 27:n polymorfia on aika yleistä, polymorfiaa tavataan vielä useammin etenkin aminohapossa numero 16 ja harvinaisempaa Arg16-aminohappoa sisältävää alleelia nähdään joissain ihmispopulaatiossa lähes 50 %:n frekvenssillä. Lisäksi, vaikka Arg16 onkin harvinaisempi alleeli, useissa tutkimuksissa sitä pidetään villityypin alleelina sillä se kloonattiin ennen Gly16-varianttia sisältävää β 2-adrenoseptoria (Small Ym. 2003). Vaimennussäätelyvaihteluiden lisäksi β 2-adrenoseptoreiden Gly16-varianteilla on havaittu hyperaktiivisuutta kun niiden cAMP:n tuottoa on verrattu Arg16 -variantteihin. Tämä havaittiin, kun lyhytaikaisesti adrenaliinilla stimuloitujen Gly16-aminohappoa sisältävien β 2-adrenoseptoreiden huomattiin muuttavan konformaatiotaan nopeammin tehokkaamman GRK:n fosforylaation ansiosta. Vaikka fosforylaatio toimii reseptorin desensitisaatiota indusoivana tekijänä, se voi lyhyen agonististimulaation aikana vaikuttaa myös reseptorin aktivaatiokinetiikkaan ja täten nopeuttaa cAMP:n tuottoa (Ahles Ym. 2011). Ahles Ym. (2011) tutkimuksessa havaitsema aktiivisempi Gly16-variantin fosforylaatio sekä reseptoriin liittyvän β -arrestiin nopeampi liittyminen selittää myös osaltaan Green Ym. (1994) havaitsemaa

Gly16-varianttien voimakkaampaa vaimennussäätelyä. Kolmas suhteellisen yleisesti tavattava β 2-adrenoseptorien polymorfia sijaitsee aminohapossa numero 164, joka sijaitsee reseptorin neljännessä solukalvon läpäisevässä α -heliksissä. Thr164Ile-polymorfiassa polaarisen treoniinin vaihtuminen isoleusiiniksi lisää α -heliksin hydrofobisuutta, minkä on arveltu vaikuttavan viidennen ja neljännen α -heliksin vuorovaikutuksiin ja täten myös reseptorin aktivaatioon (Ahles & Engelhard 2014). Vaikka astman etiologiaa tuskin voidaan selittää yksin β 2-adrenoseptoreiden polymorfialla, polymorfia voi kuitenkin vaikuttaa astman vakavuuteen sekä sen hoidossa käytettävien lääkkeiden vasteisiin. Täten astmaatikkojen lääkkeiden tehokkuutta voitaisiinkin ehkä parantaa β 2-adrenoseptoreiden genotyypillä, joka tehostaisi lääkkeiden vasteita ottamalla huomioon yksilölliset erot β 2-adrenoseptoreiden rakenteessa (Hizawa 2009).

4.3. β 2-adrenoseptorit voivat muuttaa konformaatiotaan myös ilman agonistia

Jotkin G-proteiinikytkentäiset reseptorit voivat hetkittäin muuttaa konformaatiotaan aktiiviseksi myös ilman agonistin läsnäoloa. Tätä ilmiötä on tutkittu etenkin β 2-adrenoseptorien avulla, jolloin solujen adenylylaattisyklaasin aktiivisuuden on havaittu nousevan pelkästään β 2-adrenoseptorien ekspresion kasvattamisella. β 2-adrenoseptorit voivat siis tasapainotella aktiivisen ja inaktiivisen konformaation välillä ja agonistin läsnäolo muuttaa reseptorien konformaatio-tasapainon aktiivisen puolelle, joka nähdään esimerkiksi lisääntyneenä cAMP:n kasvuna. On myös tärkeää huomata, että β 2-adrenoseptorien välittämät signaalit eivät aina kulje tavanomaista cAMP-reittiä, joten myös aktiivisten konformaatioiden välillä voi olla eroja. Syklistä AMP-reittiä stimuloiva konformaatio ei välttämättä stimuloi esimerkiksi fosfolipaasia, mikä osaltaan vähentää päällekkäisiä signaalireittejä. Tämä antaa tutkijoille uusia mahdollisuuksia kehittää entistä selektiivisempiä agonisteja, joilla voitaisiin entistä tarkemmin stimuloida haluttuja konformaatioita sekä signaalikaskadeja ja täten vähentää lääkkeiden sivuvaikutuksia (Deupi & Kobilka 2010; McGraw & Liggett 2005).

4.4. β 1 ja β 3-adrenoseptorien rooli astmassa

Vaikka β 1- ja β 3-adrenoseptorien roolia astmassa on β 2-adrenoseptoreihin verrattuna tutkittu suhteellisen vähän, monien tutkimusten mukaan niillä ei ole merkittäviä rooleja astman patologiassa. Vaikka β 1-adrenoseptoreiden onkin todettu olevan pääasiallisia hengitysteiden

lihasten supistumisen säätelijöitä hiirillä (Henry & Goldie 1990), ihmisen hengitysteiden supistumista säädellään lähes kokonaan β 2-adrenoseptoreiden avulla. Tätä tukee myös Löfdahl & Svedmyr (1984) tekemä tutkimus missä havaittiin, että selektiivisellä β 1-adrenoseptorien stimuloinnilla ei ollut mitään vaikutusta ihmisten hengitysteiden vasodilaatioon. On kuitenkin havaittu, että β 3-adrenoseptorien Trp64-aminohapon (tryptofaani) Arg64:ksi (arginiini) muuttava Trp64Arg-polymorfia olisi yhteydessä painoideksien nousuun sekä liikalihavuuteen (Fujisawa Ym. 1998), millä voisi Kuo Ym. (2014) mukaan olla yhteys astman esiintyvyyteen. He havaitsivat, että lasten painoideksien nousu nostaa astman riskiä huomattavasti, joskin tutkimuksessa ei havaittu merkittävää yhteyttä Trp64Arg-polymorfian ja astman välille. Harvinaisempaa Arg64-alleelia kantavien lasten ylipainolla ja astmalla välillä oli kuitenkin merkittävämpi yhteys Trp/Trp-genotyyppiä kantaviin lapsiin verrattuna ja astman esiintyvyys voisi tässä tapauksessa johtua epäsuorasti ylipainoisten lasten pienemmistä keuhkojen tilavuudesta (Biring Ym. 1999).

5. β -adrenoseptorit ja sydänsairaudet

Sydämen vajaatoiminta stimuloi lisämunuaisia lisäämään katekoliamiinien eritystä, jotka β -adrenoseptoreiden kautta lisäävät sydämen sykettä ja supistuvuutta. Sydämen toiminnan tehostaminen tapahtuu usein cAMP-molekyylien määrää nostavien Gs-proteiinien avulla, mutta sydämen toiminnan tehostamisen lisäksi β -adrenoseptorien on havaittu säätelevän myös esimerkiksi solusykliä cAMP:n tuottoa inhiboivan Gi-proteiinin ja mitogeneeniaktivoitujen proteiinikinaasien (MAPK) kautta. Täten lisääntynyt katekoliamiinien tuotto voi paitsi lisätä sydämen räsitusta, sekä aiheuttaa muita patofysiologisia vasteita sydämessä (Barrese & Tagliatela 2013; Madamachi 2007). β -adrenoseptoreiden on havaittu säätelevän useita eri signaalireittejä, jotka kommunikoivat keskenään ja säätelevät supistuvuuden lisäksi myös mm. sydänlihasten hypertrofiaa ja apoptoosia. Sydänlihas sisältää pääasiassa β 1-adrenoseptoreita, joiden päätehtävä on stimuloida sydämen toimintaa, mutta sydänlihasta stimuloivan vaikutuksen lisäksi β 1-adrenoseptorien on havaittu välittävän myös kardiotoksisia signaaleja. (Bernstein Ym. 2011). Myös β 2-adrenoseptoreita tavataan sydänlihaksessa, jossa ne osaltaan vaikuttavat myös sydänlihaksen supistuvuuteen (Brodde 1991) sekä sydänsoluja suojaaviin mekanismeihin mm. Gi-PI3K-Akt -signaalikaskadin kautta (Bernstein Ym. 2011). Tästä huolimatta terveiden ihmisten sydämen on havaittu sisältävän suhteessa paljon enemmän β 1-adrenoseptoreita kuin β 2-adrenoseptoreita. Normaali β 1-adrenoseptoreiden suhde β 2-adrenoseptoreihin on noin 8:2, kun taas sydämen vajaatoiminnassa suhteen on havaittu laskevan lähes tasavertaiseksi (Port & Bristow

2001). Sydämen β 1- ja β 2-adrenoseptoreiden mekanismeista löytyy paljon tietoa ja ne ovatkin sydänsolujen pääasialliset β -adrenoseptorit, mutta sydänlihaksessa esiintyy myös β 3-adrenoseptoreita, joiden on muidenkin β -adrenoseptorien tapaan havaittu vaikuttavan myös sydämen fysiologiaan (Cannavo & Koch 2016).

5.1. β 1-adrenoseptorien signalointi sydämessä

β 1-adrenoseptorien säätelemä sydämen sykettä ja supistusvoimaa lisäävä cAMP/PKA -reitti on nopea ja sen sympaattisen vasteen huippu on nähtävissä alle minuutissa, mikä on tärkeää esimerkiksi akuutissa stressissä. (Zhu Ym. 2003). Aktiivisen proteiinikinaasi A:n fosforyloimat troponiini I, ryanodiini reseptori (RyR), L-tyypin Ca^{2+} -kanava ja fosfolamban lisäävät sydämen supistumista ja tehostavat sen relaksoitumista supistumisen jälkeen (Madamanchi 2007). Proteiinikinaasi A:ta aktivoivan signaalireitin on havaittu nopeuttavan sydänlihaksen relaksoitumista myös kardiaalisen troponiinin sekä myosiinia sitovan proteiini C:n (MYBPC3) fosforylaation avulla (Wattanapermpool Ym. 1995; Kuster Ym. 2012). Lisäksi aktiivisen PKA:n on havaittu vähentävän myös sydänlihassolujen sarkomeerien passiivista jäykkyyttä titiinin fosforylaation seurauksena (Kruger & Linke 2006). Sydänlihaksessa β 1-adrenoseptorien stimuloima PKA:n kinaasiaktiivisuus säätelee siis lähinnä sydämen lyöntien välisiä Ca^{2+} -konsentraatioita sekä sydänlihaksen pienimmän toiminnallisen osan eli sarkomeerin proteiineja. Toisaalta lihassolun Ca^{2+} -konsentraatio voi vaikuttaa myös kalmoduliinin aktiivisuuteen, joka puolestaan säätelee kalmoduliiniriippuvaisen proteiinikinaasin (CaMKII) aktiivisuutta. Kuten PKA, myös CaMKII stimuloi troponiinin, RyR:n sekä fosfolambanin aktiivisuutta ja täten myös osaltaan vaikuttaa sydämen supistumiseen sekä relaksoitumiseen Ca^{2+} -konsentraation kautta (Lorenz Ym 2012). Kuten muutkin β -adrenoseptorit myös β 1-adrenoseptorit voivat siis signaloida agonistin välittämiä viestejä ilman suoraa syklisen AMP-molekyylin ja sen stimuloiman proteiinikinaasin A:n aktiivisuutta. Pitkään jatkuneen β 1-adrenoseptorin stimuloinnin on myös havaittu välittävän solun selviämiseen liittyviä signaaleja β -arrestiinin välityksellä. Tällöin reseptorin pitkittynyt aktivaatiotila johtaa reseptorin β 1-adrenoseptorin C-terminaalien fosforylaatioon, joka stimuloi β -arrestiinia liittymään reseptoriin. β -arrestiini voi puolestaan välittää useita solua suojaavia signaalikaskadeja Akt-, MAPK- ja ERK-molekyylin välityksellä (Noma Ym. 2007).

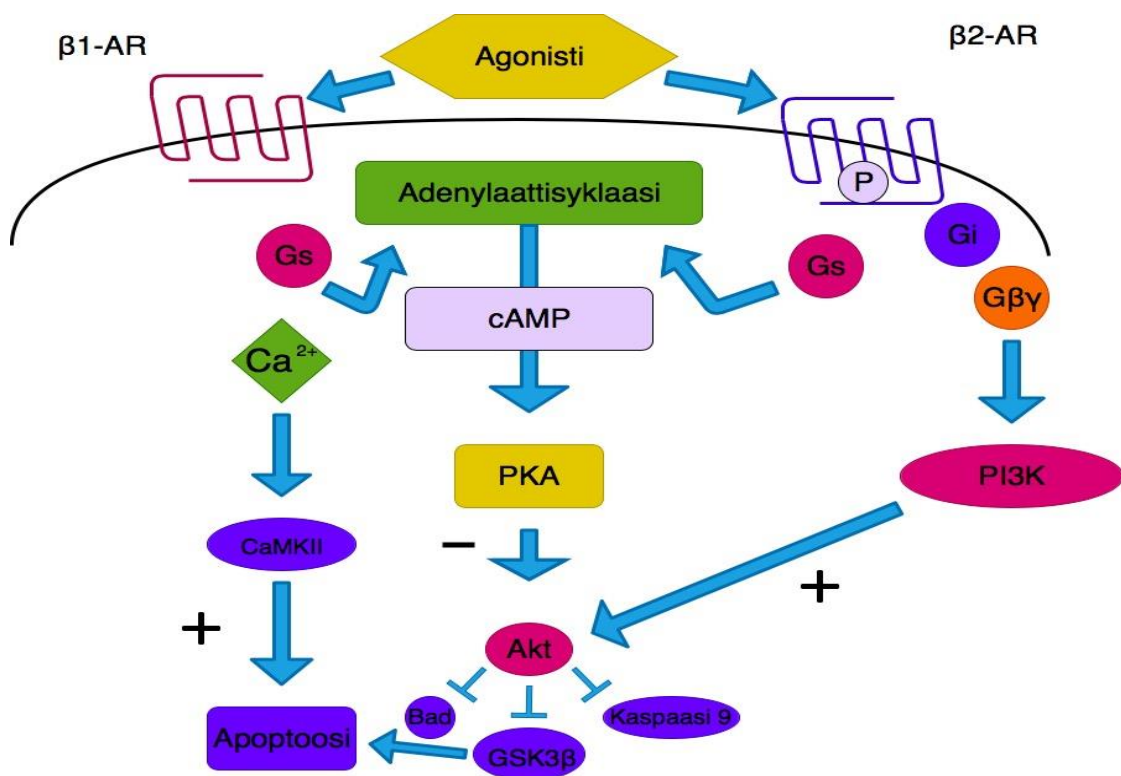
Solua suojaavien signaalien lisäksi β 1-adrenoseptorit voivat välittää myös kardiotoksisia signaaleja ja pienenkin β 1-adrenoseptoreiden yliekspression on havaittu johtavan vakaviin sydänsairauksiin

esimerkiksi solunsisäisen Ca^{2+} -sääteilyhäiriöiden seurauksena (Steinberg 2018; Engelhardt Ym. 1999). Häiriöt etenkin CaMK:in toiminnassa on liitetty rytmihäiriöitä aiheuttavaan solunsisäiseen Ca^{2+} -sääteilyhäiriöön, jolloin CaMK:in fosforyloima ryanodiinireseptori vuotaa Ca^{2+} -ioneja soluun ja solujen kalsiumpitoisuus nousee sydämen diastolisessakin vaiheessa (Kohlaas Ym. 2006). β 1-adrenoseptorit voivat myös signaloida solun apoptoosia, joskin joidenkin tutkimusten mukaan apoptoosia aiheuttava signalointi tapahtuisi cAMP- ja PKA -molekyyleistä riippumattomista signaalireiteistä. Zhu Ym. (2003) huomasivat tutkimuksessaan, että sydänlihassolujen apoptoosia ei voida inhiboida proteiinikinaasi A:n kautta, mutta CAMKII sekä Ca^{2+} -kanavien inhiboinnin todettiin vähentävän β 1-adrenoseptorien indusoimaa apoptoosia merkittävästi. Heidän mukaansa β 1 adrenoseptoreiden välittämä sydänlihassolujen apoptoosi signaloituisi siis kalmoduliini-riippuvaisen proteiinikinaasin (CAMKII) sekä Ca^{2+} -ionien välityksellä (Kuva 3). Vaikka CAMKII voidaan aktivoida epäsuorasti proteiinikinaasi A:n stimuloiman Ca^{2+} -konsentraation nousun välityksellä, tässä tutkimuksessa CAMKII aktivaatioon tarvittava solujen Ca^{2+} -konsentraation nousu tapahtui proteiinikinaasi A:sta riippumattomista syistä. Täten vaikka perinteiset β 1-adrenoseptorille selektiiviset antagonistit ovatkin olleet tehokkaita lääkkeitä kroonisen sydämen vajaatoiminnan hoidossa, myös tämän signaalireitin hyödyntäminen uusien selektiivisten sydänlääkkeiden kehittämisessä voisi olla erittäin hyödyllistä (Zhu Ym. 2003).

5.2. β 2-adrenoseptorien signalointi sydämässä

β 2-adrenoseptorit säätelevät sydämen supistumista etenkin proteiinikinaasi A:n sekä L-tyypin Ca^{2+} -kanavan kautta (Xiao 2001). Mutta toisin kuin β 1-adrenoseptoreilla, β 2-adrenoseptoreiden välittämällä signaalikaskadeilla on havaittu olevan myös sydänsoluja suojaavia vaikutuksia. Sydänsoluissa β 2-adrenoseptorit ovat β 1-adrenoseptoreita useammin kytkettyinä cAMP:n syntetisointia inhiboivaan Gi-proteiiniin ja voivat sen kautta aktivoida esimerkiksi sydämen supistumista ehkäisevää fosfolipaasi A:ta sekä inhiboida proteiinikinaasi A:n signaloimaa apoptoosia (Madamanchi 2007; Xiao 2001). β 2-adrenoseptori ja siihen linkittynyt Gi-proteiini voivat suojata sydänsoluja fosfoinositidi-3-kinaasin (PI3K) sekä proteiinikinaasi B:n (Akt) välityksellä (Zheng Ym. 2005;kuva 3), mitä tukee myös Zhu Ym. (2001) havainto, että apoptoosia ehkäisevän PI3K-, Akt-signaalin inhibointi muuttaa β 2-adrenoseptorien signaloinnin antiapoptoottisesta proapoptoottiseksi. Joidenkin tutkimusten mukaan selektiivinen β 1-adrenoseptorien blokkaukseen yhdistettynä β 2-adrenoseptorien agonisteihin, voisikin tarjota

paremman vasteen sydänsairauksien hoidossa (Xiao Ym. 2004). Vaikka β 2-adrenoseptorien onkin havaittu estävän apoptoosia sekä *in vitro* että *in vivo* (Bernstein Ym. 2011), kaikki *in vivo* -tutkimukset eivät kuitenkaan täysin tue β 2-adrenoseptorien sydänsoluja suojaavaa vaikutusta. Aikaisemmissa tutkimuksissa on huomattu, että vaikka moninkertainen β 2-adrenoseptorien ekspressointi lisääkin sydämen supistumista, liiallinen β 2-adrenoseptorien ekspressointi voi johtaa sydäntä laajentavaan dilatoivaan kardiomyopatiaan sekä fibroosiin (Liggett Ym. 2000; Milano Ym. 1994). Nykyisten tietojen pohjalta voidaankin sanoa, että kuten hengitysteissäkkin, β 2-adrenoseptorit ohjaavat aktivoivia sekä inhiboivia toimintoja useiden päällekkäisten signaalikaskadien avulla myös sydämessä (Bernstein Ym. 2011). Vaikka β 2-adrenoseptoreilla on potentiaalia signaloida myös proapoptoottisia signaalikaskadeja, terveiden yksilöiden sydänsoluissa β 2-adrenoseptorien signaalikaskadeja dominoivat antiapoptoottiset signaalireitit (Zhu Ym. 2001).

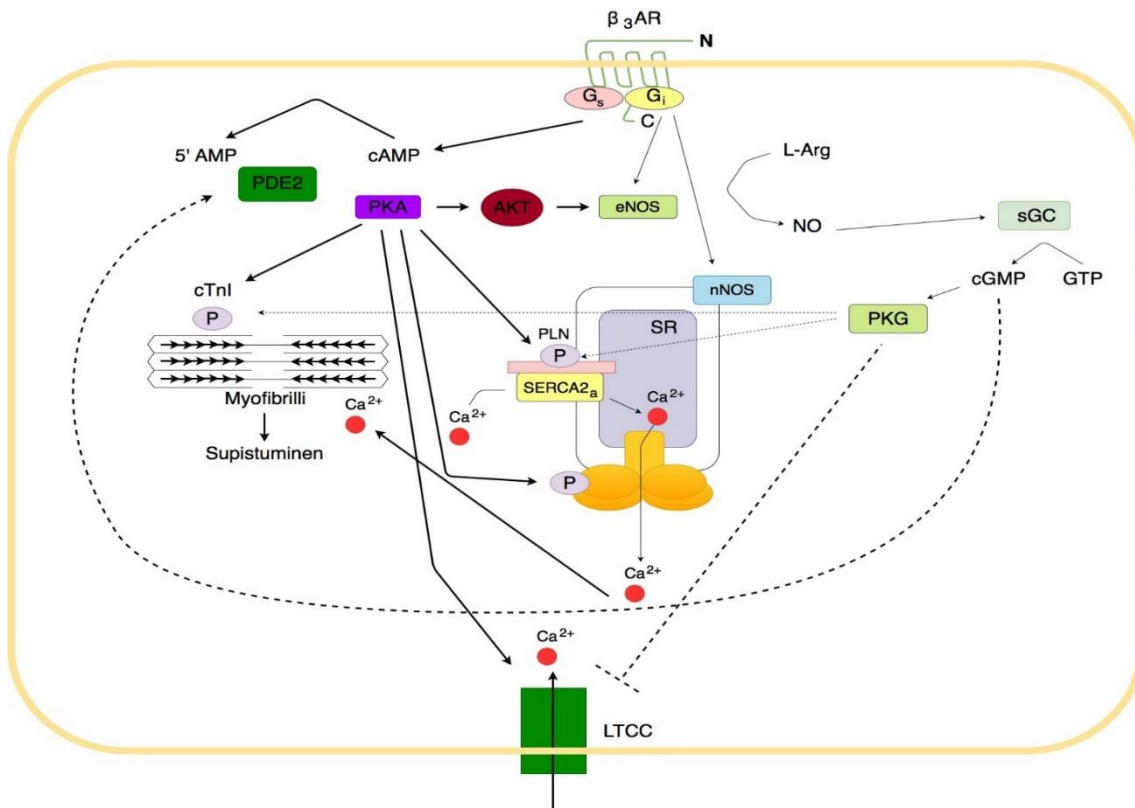


Kuva 3. β -adrenoseptorien apoptoosia säätelevät signaalit sydänsoluissa. Sydämessä β 2-adrenoseptorit ovat β 1-adrenoseptoreita useammin linkittyneinä Gi-proteiineihin ja voivat sen avulla signaloida antiapoptoottisia signaalikaskadeja fosfoinositidi-3-kinaasin (PI3K) sekä proteiinikinaasi B:n (Akt) välityksellä. Sydämen β 1-adrenoseptorien on havaittu välittävän kardiotoksisia signaalikaskadeja cAMP-, PKA-, Akt-signaalireitin avulla. Kardiotoksiset signaalireitit voivat kulkeutua myös β 1-adrenoseptorien stimuloinnin seurauksena kasvaneen Ca²⁺-

konsentraation ja sen aktivoiman CaMKII avulla (Kuva muokattu lähteestä Bernstein Ym. 2011, teksti lähteistä Bernstein Ym. 2011 ja Zheng Ym. 2005).

5.3. β 3-adrenoseptorien signalointi sydämässä

Vaikka β 3-adrenoseptoreita ei sydämässä ekspressoidakaan samassa mittakaavassa kuin β 1- ja β 2-adrenoseptoreita, myös niiden on havaittu vaikuttavan sydänsolujen toimintaan. Tämä on kuitenkin suhteellisen uusi tieto, eikä β 3-adrenoseptorien ja sydämen toiminnan välisistä vuorovaikutuksista ole yhtä paljoa tietoa, kuin muista β -adrenoseptoreista (Cannavo & Koch 2016). Muidenkin β -adrenoseptorien tapaan β 3-adrenoseptorit signaloivat cAMP-molekyylien sekä proteiinikinaasi A:n välityksellä, mutta sydämässä sen on havaittu vaikuttavan etenkin syklistä AMP-molekyyliä inhiboivan $G_{i\alpha}$ -proteiinin kanssa ja täten suojaavan sydäntä β 1-adrenoseptorien aiheuttamalta sydämen liikarasiutukselta (Cannavo & Koch 2016). β 3-adrenoseptorit inhiboivat sydämen supistumista G_i -proteiiniensa avulla, jotka voivat aktivoida sekä sytoplasmassa ja sarkoplasmisessa retikkelissä sijaitsevia typpioksidisyntaaseja tuottamaan typpioksidia. Tuotettu typpioksidi voi aktivoida guanylaattisyklaasia tuottamaan syklistä guanosinimonofosfaattia (cGMP), joka puolestaan aktivoi proteiinikinaasi G:tä (PKG) inhiboimaan lihassupistusta aktivoivia solukalvon Ca^{2+} -kanavia (LTCC). β 3-adrenoseptorien signaalikaskadien tuottama cGMP voi inhiboida lihassupistusta myös aktivoimalla cAMP-molekyyliä hajottavaa fosfodiesteriäsi 2:a. Toisaalta PKG-entsyymi voi myös PKA:n tapaan fosforyloidia Ca^{2+} -pumppuja säätelevää fosfolambania sekä myosiinifilamenttien liikkumiseen vaikuttavaa troponiiniä (cTnl) ja täten nopeuttaa Ca^{2+} -ionien kulkua takaisin sarkoplasmiseen retikkeliin ja auttaa sydänlihaksen relaksoitumisessa (Kuva 4; Cannavo & Koch 2016; Skeberdis 2004). β 3-adrenoseptoreiden negatiivinen vaikutus lihassolujen supistuvuuteen voidaan nähdä etenkin sydämen kammioissa, mutta toisaalta β 3-adrenoseptoreiden aktivoinnin on havaittu lisäävän supistuvuutta sydämen eteisen lihassoluissa perinteisen cAMP-molekyylin ja Ca^{2+} -konsentraation nousun välityksellä (Skedebriis Ym. 2004). β 3-adrenoseptoreiden vaikutus on siis aika kudosspesifistä ja koska sydänlihaksen β 1- ja β 2-adrenoseptorit stimuloivat sydämen supistuvuutta ja lyöntitiheyttä, selektiivisellä β 3-adrenoseptorin stimuloinnilla voisinkin olla sydämen liikarasiutusta ehkäisevä vaikutus (Tuncay Ym. 2019). Tätä ajatusta tukee myös β -salpaajien vaikutusmekanismi, jonka sydäntä suojaava vaikutus välittyy osittain myös lisääntyneellä β 3-adrenoseptorien aktivaatiolla (Cannavo & Koch 2016).



Kuva 4. β_3 -adrenoseptoreiden signaalireittejä sydänsoluissa. β_3 -adrenoseptorit aktivoivat lihassupistumista inhiboivaa signaalireittiä G_i -proteiiniensa avulla, jotka aktivoivat syklisen guanosiinimonofosfaatin (cGMP) tuottoa stimuloivia typpioksidisyntaaseja (NOS). NOS:in stimuloima cGMP tuotto inhiboi lihassupistusta aktivoimalla proteiinkinaasi G:tä (PKG), joka inhiboi solukalvon Ca^{2+} -kanavia (LTCC). PKG-entsyymi voi myös fosforyloida fosfolambania (PLN) sekä troponiiniä (cTnI) ja täten stimuloida sydänlihaksen relaksoitumista. Typpioksidisyntaasin tuottama typpioksidi voi syklisen GMP-molekyylin tuoton stimuloinnin avulla inhiboida lihassupistusta myös aktivoimalla cAMP-molekyyliä hajottavaa fosfodiesteriä 2:a. β_3 -adrenoseptorit voivat signaloida sydämessä myös G_s -proteiinien avulla, jolloin syklisen AMP-molekyylin aktivoima proteiinkinaasi A tehostaa sydämen supistumista ja relaksoitumista fosforyloimalla fosfolambania, troponiiniä sekä ryanodiini reseptoria (RyR) (Kuva ja teksti muokattu lähteestä Cannavo & Koch 2016).

5.4. Sydämen toiminta ja β -adrenoseptorien desensitisaatio

Etenkin sydämen vajaatoiminnan aikana voidaan nähdä sydämen toiminnan sekä vasteiden hiipumista, joka muistuttaa paljon agonistien ylistimuiloinnin aikaansaamaa β -adrenoseptoreiden desensitisaatiota. Sydämen vajaatoiminnan aikana etenkin β_1 -adrenoseptoreiden sekä sitä

koodaavan mRNA määrän on huomattu laskevan merkittävästi. Vajaatoimintaa seuraa usein myös β -adrenoseptoreita fosforyloivien kinaasientsyymien määrän nousu ja näillä ilmiöillä uskotaan olevan huomattava vaikutus sydämen vajaatoiminnan edistämiseen (Lohse Ym. 1996).

β 2-adrenoseptorien vaimennussäätely on riippuvainen pääasiassa kinaasientsyymien fosforylaation seurauksena nähtävistä ilmiöistä ja vaikka β 1-adrenoseptoreiden rakenne on suhteellisen samankaltainen muiden β -adrenoseptoreiden kanssa, sen on havaittu sisältävän muita β -adrenoseptoreita suurempaa heterogeenistä vaihtelua etenkin sen desensitisaatioon vaikuttavassa rakenteessa. β 1-adrenoseptorit sisältävät pienemmällä todennäköisyydellä desensitisaatiota stimuloivia fosforylointikohtia, mikä on ristiriidassa joidenkin aikaisempien tutkimuksien kanssa, joissa sydämen vajaatoiminnan aiheuttaman katekoliaamiinien ylistimuloinnin on havaittu vähentävän solunulkopuolisia β 1-adrenoseptoreita, jättäen β 2-adrenoseptorit solun pinnalle (Steinberg 2018; Port & Bristow 2001). Park Ym. (2017) kuitenkin huomasivat tutkimuksessaan, että β 1-adrenoseptorit sisältävät myös O-glykosylaatiokohtia N-terminaalinsa seriini 37- ja seriini 41- aminohapoissa, jotka voisivat toimia säätelijätekijänä β 1-adrenoseptoreiden N-terminaalin leikkaamiselle. Ligandin liittymiselle tärkeän solunulkoisen N-terminaalin leikkaaminen voisi täten vaikuttaa reseptorin desensitisaatioon β 2-adrenoseptoreista poikkeavalla tavalla. N-terminaalin leikkaaminen voisi β 1-adrenoseptoreiden tapauksessa suojata solua apoptosilta, inhiboimalla cAMP-PKA-reittiä, mutta antaa B-arrestiin kautta kulkevien, solua suojaavien Akt- ja ERK-signaalien jatkoa. Tämä suhteellisen uusi tieto on tärkeä ottaa huomioon etenkin, kun tarkastellaan vanhempia tutkimuksia, joissa β 1-adrenoseptoreiden ekspressiota ja lokalisaatiota on tutkittu esimerkiksi vasta-aineilla, jotka eivät ota huomioon N-terminaalin leikkausta (Steinberg 2018).

Toisin kuin muilla β -adrenoseptoreilla β 3-adrenoseptorien C-terminaali ei sisällä desensitisaatiota stimuloivaa fosforylaatiokohtaa (Skeberdis 2004). β 3-adrenoseptoreiden desensitisaation onkin havaittu olevan paljon vähäisempää β 1- ja β 2- adrenoseptoreihin verrattuna. β 3-adrenoseptorien desensitisaatio riippuu myös solutyypistä, joissa sillä voi olla erilaisia vuorovaikutuksia adenyylaatti syklaasin ja täten myös cAMP tuoton kanssa. β 3-adrenoseptorien desensitisaation onkin huomattu toimivan juuri cAMP-molekyylien säätelemien signaalikaskadien välityksellä. Syklisen AMP:n on havaittu vaikuttavan signaaleihin, jotka säätelevät reseptoria koodaavan geenin promoottoria ja täten säätelevät β 3-adrenoseptorien translaatiota mRNA:n tuoton kautta. β 3-adrenoseptoreilla on myös muita desensitisaatioon vaikuttavia mekanismeja, kuten cAMP:tä pilkkovien

fosfodiesterasien aktivointiin ja Gs-proteiinista irtoamiseen liittyviä signaalikaskadeja, joskin niiden ei ole havaittu olevan yhtä merkittäviä, kuin β 3-adrenoseptoreita koodaavan mRNA:n vaimennussäätelyn (Nantel Ym. 1994).

5.5. β -adrenoseptorien polymorfia sydänsairauksissa

Ihmiskannassa tavataan ainakin kahta β 1-adrenoseptoreita koodaavaa polymorfian muotoa, jossa reseptorin aminohapossa numero 49 nähdään joko seriini tai glysiini sekä aminohapossa numero 389 arginiini tai glysiini. Aminohappo numero 49 sijaitsee β 1-adrenoseptorin solunulkoisessa osassa, jossa Gly49 esiintyy ihmiskannassa pienemmällä frekvenssillä Ser49:ään verrattuna. Ser49Gly-polymorfialla on havaittu olevan patofysiologisia vaikutuksia ja etenkin vasemman kammion ejektiofraktion on havaittu olevan parempi sydämen vajaatoiminnasta toipuvien, Ser49-homotsygoottisten potilaiden keskuudessa verrattuna Gly49-alleelia kantaviin potilaisiin. Aminohappo numero 389 sijaitsee β 1-adrenoseptorin C-terminaalissa solukalvon sisäpuolella ja myös sen polymorfian on havaittu vaikuttavan reseptorin toimintaan *in vitro*, mutta sen ei ole havaittu vaikuttavan vasemman kammion ejektiofraktioon sydänpotilailla (Luzum Ym. 2019). Suurin osa β 1-adrenoseptoreiden polymorfiatutkimuksista on keskittynyt juuri sydämen toimintaan. Useissa tutkimuksissa eri polymorfian muotojen on havaittu vaikuttavan eri sydänlihassairauksien syntyyn ja esimerkiksi Gly49-alleelia kantavien ihmisten on havaittu olevan alttiimpia myös dilatoivalle kardiomyopatialle (Small 2003: Köpke Ym. 2000).

Vaikka sydämen vajaatoiminta lisää katekoliamiinien eritystä ja voi täten altistaa katekoliamiinien ylistimuloinnille, β 2-adrenoseptoreiden vaimennussäätelyyn vaikuttavien Gln27Glu- ja Arg16Gly-polymorfioiden ei ole havaittu vaikuttavan kongestiivisen sydämen vajaatoiminnan selviytymisprosenttiin (Ligget Ym. 1998). Ligget Ym. (1998) havaitsivat kuitenkin, että vaimennussäätelyä lisäävät β 2-adrenoseptoreiden Gln27- sekä Gly16-variantit laskivat selviytymisprosenttia, mutta näiden aminohappojen varianttien ja kuoleman yhteys ei ollut tilastollisesti merkittävä. Toisaalta tutkittavien potilaiden sekä seuranta-ajan lisääminen voisi muuttaa tuloksia merkittävästi. Ligget Ym. (1998) huomasivat kuitenkin, että β 2-adrenoseptorien ligandin sitomisaffiniteettiin vaikuttava Thr164Ile-polymorfia vaikuttaa selviytymisprosenttiin merkittävästi ja Ile164-alleelia kantavien potilaiden selviytymisprosentti on paljon pienempi verrattuna villityypin Thr164-varianttia kantaviin potilaisiin. Tämä β 2-adrenoseptorien neljännessä

solukalvon läpäisevässä α -heliksissä nähtävä Thr164Ile-polymorfia voi reseptorin ligandin sitomisaffiniteetin laskun lisäksi vähentää myös reseptorin kykyä kytkeytyä Gs-proteiinin kanssa ja täten vaimentaa agonistin tuomia signaaleja (Green Ym. 1993). Tätä tukee myös Turki Ym. (1996) tekemä *in vivo* -tutkimus, jossa havaittiin, että villityypin Thr164-hiiriin verrattuna Ile164-alleelia kantavien hiirien sydämen supistuvuus on heikompi sekä levossa että agonistilla stimuloitaessa. Vaikka Thr164Ile-polymorfian onkin havaittu lisäävän kuoleman riskiä sydämen vajaatoimintaa sairastavilla potilailla, β 2-adrenoseptorien polymorfian ei kuitenkaan ole havaittu lisäävän sydämen vajaatoiminnan riskiä. β 2-adrenoseptorien polymorfialla tuskin voidaan selittää sydänsairauksien syy-seuraussuhteita, mutta sen toiminnalla on kuitenkin merkittäviä vaikutuksia sydämen vajaatoimintaan (Liggett Ym. 1998).

β 3-adrenoseptori on viimeisin kloonattu β -adrenoseptori, mutta myös sitä koodaavasta geenistä on löydetty useita erilaisia variantteja. Näistä varianteista suurin osa on kuitenkin hyvin harvinaisia, eikä niistä ole löytynyt tutkimuksissa suuria patofysiologisia haittoja, jotka suoraan vaikuttaisivat sydämen toimintaan. Polymorfiaa, joka muuttaa tryptofaani-64:n arginiini-64:ksi (Trp64Arg) on kuitenkin havaittu esiintyvän populaatiossa yli 10 %:n frekvenssillä (Yang & Tao 2018). Joskin kiinalaispopulaatiosta on löytynyt myös suhteellisen usein esiintyviä, tyyppin 2 diabetekseen vaikuttavia Ser165Pro- ja Ser257Pro-polymorfioita (Huang Ym. 2013). Näistä polymorfioista etenkin aminohapon numero 64:n variaatiot ovat olleet useiden tutkimusten kohteena sen yleisyyden sekä sijainnin takia. Aminohappo numero 64 sijaitsee reseptorin ensimmäisen solukalvon lävistävän rakenteen solunsisäisessä osassa ja tryptofaani-64:n muuttumisen arginiini-64:ksi on havaittu laskevan aineenvaihduntaa sekä lisäävän ylipainon riskiä ja insuliiniresistenssiä, nämä voivat epäsuorasti vaikuttaa myös sydämen toimintaan (Yang & Tao 2018). Lisäksi, Ringel Ym. (2000) huomasivat tutkimuksessaan merkittävän yhteyden harvinaisempaa Agr64-alleelia kantavien, tyyppin 2 diabetesta sairastavien miesten sekä hypertension välille. Tutkimuksen mukaan Arg64-alleelia kantavien miesten verenpaine on paljon suurempi Trp64-alleelia kantaviin miehiin verrattuna, verenpainealääkityksestä huolimatta. Muut Trp64Arg-varianttiin keskittyvien tutkimuksien tulokset ovat kuitenkin olleet hyvin ristiriitaisia ja β 3-adrenoseptorin polymorfia ei näiden tutkimusten mukaan suoraan vaikuta sydämen toimintaan. β 3-adrenoseptorin polymorfian voidaankin β 2-adrenoseptorin polymorfian tapaan sanoa olevan patofysiologisilta ominaisuuksiltaan enemmänkin riskitekijä, kuin sairauden syy (Yang & Tao 2018).

6. Läheteet

Ahles A & Engelhardt S (2014) Polymorphic variants of adrenoceptors: pharmacology, physiology, and role in disease. *Pharmacological reviews* 66(3): 598-637.

Ahles A, Rochais F, Frambach T, Bünemann M & Engelhardt S (2011) A polymorphism-specific "memory" mechanism in the β_2 -adrenergic receptor. *Science Signalling* 4 (185): 53-59.

Bai TR (1992) Beta 2 adrenergic receptors in asthma: a current perspective. *Lung* 170(3): 125-141.

Baker JG, Hall IP & Hill SJ (2003) Agonist actions of "beta-blockers" provide evidence for two agonist activation sites or conformations of the human β_1 -adrenoceptor. *Molecular pharmacology* 63(6): 1312-1321.

Baker, J. G., Gardiner, S. M., Woolard, J., Fromont, C., Jadhav, G. P., Mistry, S. N., & Fischer, P. M. (2017) Novel selective β_1 -adrenoceptor antagonists for concomitant cardiovascular and respiratory disease. *The FASEB Journal* 31(7): 3150–3166.

Barisione, G., Baroffio, M., Crimi, E., & Brusasco, V. (2010). Beta-Adrenergic Agonists. *Pharmaceuticals*. 3(4): 1016-1044.

Barrese, V., & Taglialatela, M. (2013) New advances in beta-blocker therapy in heart failure. *Frontiers in physiology* 14(4): 323.

Bernstein, D., Fajardo, G., & Zhao, M. (2011). The role of β -adrenergic receptors in heart failure: differential regulation of cardiotoxicity and cardioprotection. *Progress in pediatric cardiology* 31(1): 35-38.

Billington, C. K., Penn, R. B., & Hall, I. P. (2017) β_2 Agonists. *Handbook of experimental pharmacology* 237(1): 23-40.

Biring, M. S., Lewis, M. I., Liu, J. T., & Mohsenifar, Z. (1999) Pulmonary Physiologic Changes of Morbid Obesity. *The American Journal of the Medical Sciences* 318(5): 293–297.

Brodde OE. (1991) β_1 - and β_2 -adrenoceptors in the human heart: Properties, function, and alterations in chronic heart failure. *Pharmacological reviews* 43(2): 203-42.

- Cannavo, A., & Koch, W. J. (2016) Targeting β 3-Adrenergic Receptors in the Heart: Selective Agonism and β -Blockade. *Journal of cardiovascular pharmacology* 69(2): 71-78.
- Cherezov, V., Rosenbaum, D.M., Hanson, M.A., Rasmussen, S.G.F., Thian, F.S., Kobilka, T.S., Choi, H., Kuhn, P., Weis, W.I., Kobilka, B.K. & Stevens, R.C. (2007) High-Resolution Crystal Structure of an Engineered Human 2-Adrenergic G Protein Coupled Receptor. *Science* 318(5854): 1258-1265.
- Deupi, X., & Kobilka, B. K. (2010) Energy Landscapes as a Tool to Integrate GPCR Structure, Dynamics, and Function. *Physiology* 25(5): 293–303.
- Engelhardt S, Hein L, Wiesmann F& Lohse MJ (1999) Progressive hypertrophy and heart failure in beta1-adrenergic receptor transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(12): 7059–7064.
- Evans, B. A., Papaioannou, M., Hamilton, S., & Summers, R. J. (1999) Alternative splicing generates two isoforms of the beta3-adrenoceptor which are differentially expressed in mouse tissues. *British journal of pharmacology* 127(6): 1525-1531.
- Fredriksson R, Lagerström MC, Lundin LG & Schiöth HB. (2003) The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Molecular pharmacology* 63(6): 1256-1272.
- Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y & Ogihara T (1998) Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene with body mass index. *Journal of clinical and endocrinological metabolism* 83(7): 2441-2444.
- Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, Takekawa K, Nakagawa Y, Hamada Y, Oga T, Ueda H, Shintani M, Fukuda M & Ogihara T (1996) Association of Trp64Arg mutation of the beta3-adrenergic-receptor with NIDDM and body weight gain. *Diabetologia* 39(3): 349-352.
- Galaz-Montoya, M., Wright, S. J., Rodriguez, G. J., Lichtarge, O., & Wensel, T. G. (2017). β 2-Adrenergic receptor activation mobilizes intracellular calcium via a non-canonical cAMP-independent signaling pathway. *The Journal of biological chemistry* 292(24): 9967-9974.
- Granneman JG, Lahners KN & Chaudhry A (1993) Characterization of the human beta 3-adrenergic receptor gene. *Molecular pharmacology* 44(2): 264-270.
- Green SA, Turki J, Innis M & Liggett SB. (1994) Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 33 (32) 9414-9419.

- Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M & Liggett SB. (1993) A polymorphism of the human beta 2-adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *Journal of biological chemistry* 268(31): 23116-23121.
- Henry, P. J., & Goldie, R. G. (1990) Beta 1-adrenoceptors mediate smooth muscle relaxation in mouse isolated trachea. *British journal of pharmacology* 99(1): 131-135.
- Hershberger R.E. (1994) *Congestive Heart Failure*. Springer, New York. Sivut 454-492
- Holgate, S. T. & Douglass, J. A. (2010) *Asthma (3. painos)*. Abingdon: HEALTH Press. S. 9-23.
- Hizawa, N. (2009) Beta-2 adrenergic receptor genetic polymorphisms and asthma. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 34(6): 631–643.
- Huang Q, Yang TL, Tang BS, Chen X, Huang X, Luo XH, Zhu YS, Chen XP, Hu PC & Chen J, Wei W, Zhou HH, Yin JY & Liu ZQ (2013) Two novel functional single nucleotide polymorphisms of ADRB3 are associated with type 2 diabetes in the Chinese population. *Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98(7): 1272–1277.
- Hutchinson DS, Bengtsson T, Evans BA & Summers RJ. (2002) Mouse beta 3a- and beta 3b-adrenoceptors expressed in Chinese hamster ovary cells display identical pharmacology but utilize distinct signalling pathways. *British Journal of pharmacology* 135(8): 1903–1914.
- Johnson M (2006) Molecular mechanisms of beta(2)-adrenergic receptor function, response, and regulation. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 117(1): 18-24.
- Kenakin T (2013) New concepts in pharmacological efficacy at 7TM receptors: IUPHAR review 2. *British journal of pharmacology* 168(3): 554-575.
- Krief S, Lönnqvist F, Raimbault S, Baude B, Van Spronsen A, Arner P, Strosberg AD, Ricquier D & Emorine LJ (1993) Tissue distribution of beta 3-adrenergic receptor mRNA in man. *Journal of clinical investigation* 91(1): 344-349.
- Kruger M & Linke WA (2006). Protein kinase-A phosphorylates titin in human heart muscle and reduces myofibrillar passive tension. *Journal of muscle research cell motility* 27(5): 435-444.
- Kohlhaas M, Zhang T, Seidler T, Zibrova D, Dybkova N, Steen A, Wagner S, Chen L, Brown HJ, Bers DM, Maier LS (2006) Increased sarcoplasmic reticulum calcium leak but unaltered contractility by acute CaMKII overexpression in isolated rabbit cardiac myocytes. *Circulation research*. 98 (2) 235–44.

Krupnick J G & Benovic J L. (1998) The role of receptor kinases and arrestins in G protein–coupled receptor regulation. *Annual review of pharmacology and Toxicology* 38(1): 289–319.

Kuo, N.-W., Tung, K.-Y., Tsai, C.-H., Chen, Y.-C., & Lee, Y. L. (2014) β 3-Adrenergic receptor gene modifies the association between childhood obesity and asthma. *Journal of allergy and clinical immunology* 134(3): 731–733.

Kurose, H (2004) β 2-adrenergic receptors: Structure, regulation and signaling by partial and full agonists. *Allergology International* 53(4): 321-330.

Kuster DW, Bawazeer AC, Zaremba R, Goebel M, Boontje NM & van der Velden J. (2012) Cardiac myosin binding protein C phosphorylation in cardiac disease. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 33(1): 43-52.

Landsberg L (2018) Pheochromocytomas, Paragangliomas and Disorders of the Sympathoadrenal System. Springer. S.1-14.

Liggett S, Tepe N, Lorenz J, Canning AM, Jantz TD, Mitarai S, Yatani A & Dorn GW (2000) Early and delayed consequences of β 2-adrenergic receptor overexpression in mouse hearts. Critical role for expression level. *Circulation* 101(14): 1707-1714.

Liggett, S. B., Wagoner, L. E., Craft, L. L., Hornung, R. W., Hoit, B. D., McIntosh, T. C., & Walsh, R. A. (1998) The Ile164 beta2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *The Journal of clinical investigation* 102 (8): 1534–1539.

Loewy, A. D. & Spyer, K. M (1990) Central regulation of autonomic functions. Oxford university press. New York. sivut 22-24.

Lohse MJ, Engelhardt S, Danner S & Böhm M (1996) Mechanisms of beta-adrenergic receptor desensitization: from molecular biology to heart failure. *Basic research in cardiology* 91(2): 29-34.

Lorenz K, Rosner MR, Brand T & Schmitt JP (2012) Raf kinase inhibitor protein: lessons of a better way for β -adrenergic receptor activation in the heart. *Journal of physiology*. 595(12):4073-4087

Luzum J A, English J D, Ahmad U S, Sun J W, Canan B D, Sadee W, Kitzmiller J P & Binkley P F. (2019) Association of Genetic Polymorphisms in the Beta-1 Adrenergic Receptor with Recovery of Left Ventricular Ejection Fraction in Patients with Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Translational Research* 12(67): 1-10.

Löfdahl, C. G., & Svedmyr, N. (1984) Effects of xamoterol (ICI 118,587) in asthmatic patients. *British journal of clinical pharmacology* 18(4): 597-601.

Madamanchi A. (2007) Beta-adrenergic receptor signaling in cardiac function and heart failure. *McGill journal of medicine : MJM : an international forum for the advancement of medical sciences by students* 10(2): 99-104.

McGraw DW, Almoosa KF, Paul RJ, Kobilka BK & Liggett SB. (2003) Antithetic regulation by beta-adrenergic receptors of Gq receptor signaling via phospholipase C underlies the airway beta-agonist paradox. *Journal of clinical investigation* 112(4): 619-626.

McGraw, D. W., & Liggett, S. B. (2005) Molecular mechanisms of beta2-adrenergic receptor function and regulation. *Proceedings of the American Thoracic Society* 2(4): 292–296.

Mialet-Perez J, Green SA, Miller WE, Liggett SB. (2004) A primate-dominant third glycosylation site of the β 2-adrenergic receptor routes receptors to degradation during agonist regulation. *Journal of biological chemistry* 37(10): 279 38603–38607.

Michel MC, Ochodnický P & Summers RJ (2010) Tissue functions mediated by beta(3)-adrenoceptors-findings and challenges. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 382(2): 103-108.

Milano C, Allen L, Rockman H, Dolber PC, McMinn TR, Chien KR, Johnson TD, Bond RA & Lefkowitz RJ. (1994) Enhanced myocardial function in transgenic mice overexpressing the β 2-adrenergic receptor. *Science* 264(5158): 582-586.

Molinoff PB (1984) Alpha- and beta-adrenergic receptor subtypes properties, distribution and regulation. *Drugs* 28(2): 1-15.

Murray RK, Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Weil AP & Kennelly PJ (2009) *Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw Hill Professional. 28 painos. s. 446-450.

Nantel F, Marullo S, Krief S & Strosberg AD, Bouvier M. (1994) Cell-specific down-regulation of the beta 3-adrenergic receptor. *Journal of biological chemistry* 269(18): 13148-13155.

Noma, T., Lemaire, A., Naga Prasad, S. V., Barki-Harrington, L., Tilley, D. G., Chen, J., Le Corvoisier, P., Violin, J. D., Wei, H., Lefkowitz, R. J. & Rockman, H. A. (2007) Beta-arrestin-mediated beta1-adrenergic receptor transactivation of the EGFR confers cardioprotection. *The Journal of clinical investigation* 117(9): 2445-2458.

Park M, Reddy GR, Wallukat G, Xiang YK & Steinberg SF (2017) β 1-adrenergic receptor O-glycosylation regulates N-terminal cleavage and signaling responses in cardiomyocytes. *Scientific reports* 7(1): 1-13.

- JD & Bristow MR (2001) Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 33(5): 887-905.
- Reihnsaus E, Innis M, MacIntyre N & Liggett SB. (1993) Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 8(3): 334-339.
- Reiter E, Ahn S, Shukla AK, and Lefkowitz RJ (2012) Molecular mechanism of b-arrestin-biased agonism at seven-transmembrane receptors. *Annual review of pharmacology and toxicology* 52(1): 179–197.
- Ringel J, Kreutz R, Distler A & Sharma AM (2000) The Trp64Arg polymorphism of the β 3-adrenergic receptor gene is associated with hypertension in men with type 2 diabetes mellitus. *American journal of hypertension* 13 (9): 1027–1031.
- Rosethorne, E. M., Bradley, M. E., Kent, T. C., & Charlton, S. J. (2015) Functional desensitization of the β 2 adrenoceptor is not dependent on agonist efficacy. *Pharmacology research & perspectives*, 3(1): 1-13.
- Roy, KK., & Saxena, AK. (2011) Structural Basis for the β -Adrenergic Receptor Subtype Selectivity of the Representative Agonists and Antagonists. *Journal of Chemical Information and Modeling* 51(6): 1405–1422.
- Salinthon, S., Tyagi, M., & Gerthoffer, W. T. (2008) Small heat shock proteins in smooth muscle. *Pharmacology & therapeutics* 119(1): 44-54.
- Sears MR (2002) Adverse effects of beta-agonists. *Journal of allergy and clinical immunology* 110(6): 322-328.
- Sears, M. R., & Taylor, D. R. (1994) The β 2-Agonist Controversy. *Drug Safety* 11(4): 259–283.
- Shore SA & Moore PE (2003) Regulation of β -adrenergic responses in airway smooth muscle. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 137(2–3): 179-195.
- Shore SA (2002) Cytokine regulation of beta-adrenergic responses in airway smooth muscle. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 110(6): 255-60.
- Skeberdis V A (2004) Structure and function of β 3-adrenergic receptors. *Medicina* 40(5): 407-413.

Skeberdis, V. A., Gendviliene, V., Zablockaite, D., Treinys, R., Macianskiene, R., Bogdelis, A., Jurevicius, J. & Fischmeister, R. (2008) beta3-adrenergic receptor activation increases human atrial tissue contractility and stimulates the L-type Ca²⁺ current. *The Journal of clinical investigation* 118(9): 3219-27.

Skedebri VA (2004) Structure and function of beta3-adrenergic receptors. *Medicina*. 40(5):407-13
Small, K.M., McGraw, D.W. & Liggett, S.B. (2003) Pharmacology and Physiology of Human Adrenergic Receptor Polymorphisms. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43(1): 381-411.

Souza CJ & Burkey BF (2001) Beta 3-adrenoceptor agonists as anti-diabetic and anti-obesity drugs in humans. *Current pharmaceutical design* 7(14):1433-49.

Steinberg, S.F. (2018) Beta1 Adrenergic Receptor Regulation Revisited. *Circulation research*. 123(11): 1199-1201.

Strosberg AD (1993) Structure, function, and regulation of adrenergic receptors. *Protein science* 2(8): 1198-1209.

Taylor M R (2007) Pharmacogenetics of the human beta-adrenergic receptors. *The pharmacogenomics Journal* 7(1): 29-37.

Tuncay, E., Olgar, Y., Durak, A., Degirmenci, S., Bitirim, C.V. and Turan, B. (2019) β_3 -adrenergic receptor activation plays an important role in the depressed myocardial contractility via both elevated levels of cellular free Zn²⁺ and reactive nitrogen species. *Journal of Cellular Physiology* 1(10): 1-17.

Turki, J., Lorenz, J. N., Green, S. A., Donnelly, E. T., Jacinto, M., & Liggett, S. B. (1996) Myocardial signaling defects and impaired cardiac function of a human beta 2-adrenergic receptor polymorphism expressed in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(19): 10483–10488.

Wallukat, G (2002) The β -Adrenergic Receptors. *Herz* 27(7): 683–690.

Warne, T., Serrano-Vega, M. J., Baker, J. G., Moukhametzianov, R., Edwards, P. C., Henderson, R., Leslie, A. G., Tate, C. G. & Schertler, G. F. (2008). Structure of a beta1-adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 454(7203): 486-491.

Wattanapernpool J, Guo X & Solaro RJ. (1995) The unique amino-terminal peptide of cardiac troponin I regulates myofibrillar activity only when it is phosphorylated. *Journal of molecular and cellular cardiology* 27(7): 1383-91.

Wenzel, S. E. (2003) The role of leukotrienes in asthma. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 69(2-3): 145–155.

Xiao RP (2001) PKA-mediated phosphorylation of the beta1-adrenergic receptor promotes Gs/Gi switching. *Science Signaling* 16(104): 15.

Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG & Cheng H (2004) Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends of pharmacological sciences* 25(7): 358–365.

Yang, L & Tao, Y. (2018) Physiology and pathophysiology of the β 3 -adrenergic receptor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 161(1): 91-112.

Zheng M, Zhu W, Han Q & Xiao RP (2005) Emerging concepts and therapeutic implications of beta-adrenergic receptor subtype signaling. *Pharmacology and therapeutics* 108(3): 257–268.

Zhu WZ, Wang SQ, Chakir K, Yang D, Zhang T, Brown JH, Devic E, Kobilka BK Cheng H, Xiao RP (2003) Linkage of beta1-adrenergic stimulation to apoptotic heart cell death through protein kinase A-independent activation of Ca²⁺/ calmodulin kinase II. *Journal of clinical investigation* 111(5): 617–25.

Zhu, W. Z., Zheng, M., Koch, W. J., Lefkowitz, R. J., Kobilka, B. K., & Xiao, R. P. (2001) Dual modulation of cell survival and cell death by beta(2)-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(4): 1607-12.