

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra fyziologie



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Klasifikace, struktura a funkce α -adrenergních
receptorů**

Anna-Marie Makarova

Školitel: RNDr. Lucie Hejnová, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 15. 5. 2014

.....

Podpis

Poděkování: Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Lucii Hejnové, Ph.D. za pomoc, ochotu a trpělivost při zpracovávání této práce.

Abstrakt

Adrenergní receptory jsou v současnosti jedny z neintenzivněji zkoumaných receptorů. Přenos signálu aktivací adrenergních receptorů je zapojen do stresové odpovědi. Při stresu dochází k aktivaci sympatoadrenální osy vegetativního nervového systému. Pochopení účinků této aktivace na přenos signálu adrenergními receptory je významný z hlediska ovlivnění reakce „útok nebo útek“. Ovlivnění aktivity sympatického nervstva představuje možnost působení léčiv, čehož se ve farmakologii široce využívá.

Tato práce se zabývá skupinou α -adrenergních receptorů a jejími subtypy. Část je věnována jejich struktuře, která je předmětem mnoha studií zejména v poslední době. Další kapitola se zaměřuje na přenos signálu zprostředkovaným α -adrenergními receptory. Poslední část poukazuje na množství a různorodost fyziologických funkcí vyvolaných těmito receptory.

Klíčová slova: Adrenergní receptory, GPCR, struktura, funkce, signalizace

Abstract

Adrenergic receptors are ones of the most investigated receptors today. Signal transduction by adrenergic receptors is involved in stress response. Stress activates the sympathetic and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of autonomic nervous system. Understanding effects of this activation on adrenergic signalisation is important for affection of the „fight of flight“ reaction. Affecting the activity of sympathetic nerve is important subject of interest in pharmacology and many drugs are developed using this actions.

This thesis deals with a group α -adrenergic receptors and its subtypes. One part is devoted to structure which is subject of many explorations recently especially. Next chapter focuses on signal transduction mediated by α -adrenergic receptors. The last section refers to multitude of physiologic functions induced by these receptors.

Key words: Adrenergic receptors, GPCR, structure, function, signalisation.

Obsah

1. Seznam zkratek.....	5
2. Úvod	6
3. Rozdělení AR.....	7
3.1. α 1-AR.....	7
3.2. α 2-AR.....	8
4. Struktura α -AR.....	9
5. Přenos signálu.....	12
5.1. Ligandy.....	12
5.1.1. Endogenní katecholaminy.....	12
5.1.2. Exogenní selektivní ligandy.....	13
5.1.3. Inverzní agonisté.....	16
5.2. G-proteiny.....	16
5.3. Druzí poslové.....	17
6. Fyziologické funkce AR.....	20
6.1. α 1-AR.....	20
6.1.1. α 1A-AR.....	21
6.1.2. α 1B-AR.....	21
6.1.3. α 1D-AR.....	22
6.2. α 2-AR.....	23
6.2.1. α 2A-AR.....	23
6.2.2. α 2B-AR.....	25
6.2.3. α 2C-AR.....	25
7. Závěr.....	26
8. Seznam literatury.....	27

1. Seznam zkratek

AC	adenylátcykláza
ADHD	Attention Deficit and Hyperactivity Disorder
AK	amonikyselina
AR	adrenergní receptor
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CREB	cAMP response element-binding protein
DAG	1,2-diacylglycerol
G-proteiny	GTP-vázající regulační proteiny
GPCR	receptor spřažený s G-proteiny
GTP	guanosintrifosfát
IP3	inositol-1,4,5-trifosfát
kanál L-typu	long-lasting channel
kanál T-typu	transient channel
KO	knock-out organismus
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyfenylalanin
MAPKs	mitogenem aktivované proteinkinázy
MLCK	kináza lehkého řetězce myozinu (myosin light chain kinase)
MLCP	fosfatáza lehkého řetězce myozinu (myosin light chain phosphatase)
PKA	proteinkináza A
PKC	proteinkináza C
PLC	fosfolipáza C
PLD	fosfolipáza D
TMD	transmembránové domény
WT	nemutovaný (wild-type) organismus

2. Úvod

Adrenergní receptory neboli adrenoreceptory (AR) jsou membránové proteiny náležící do nad-rodiny receptorů spřažených s trimerními G-proteiny - receptorů sedmkrát procházejících buněčnou membránou. Receptory spřažené s G-proteiny významně regulují mnoho fyziologických procesů. Jsou cílem řady hormonů, neurotransmiterů, parakrinních i autokrinních faktorů. Existuje řádově 2000 receptorů spřažených s G-proteiny, které mohou vyvolávat rozdílné specifické buněčné odpovědi.

Přenos signálu probíhá schematicky takto:

1. receptor se aktivuje navázáním ligandu – určitého agonisty;
2. aktivovaný receptor vyvolá výměnu GDP za GTP na G-proteinu a tím ho aktivuje;
3. G-protein se oddělí od receptoru, aktivovaná α -podjednotka se odpoutá od β - a γ -podjednotek a disociované podjednotky aktivují efekторы;
4. α -podjednotka se sama inaktivuje (rozštěpení GTP na GDP a P) a systém se vrací do základního stavu.

AR se spolu s cholinergními receptory podílí na základních funkcích autonomního nervového systému, který udržuje homeostázu organismu - zprostředkovávají přenos signálu u postgangliových neuronů sympatiku. Reagují na katecholaminy a na další exogenní agonisty buněčnou odpovědí zahrnující druhého posla nebo iontový kanál.

AR jsou nejdéle studovanými receptory spřaženými s G-proteiny. Dělí se na dvě hlavní skupiny α -AR a β -AR. Cílem této bakalářské práce je shromáždit a utřídit dosavadní poznatky o klasifikaci, struktuře a funkci podtypů AR, které zahrnuje skupina α -AR.

3. Rozdělení α -AR

Elementárně se AR dělí na α -AR a β -AR. Obecně jsou α -AR citlivější k adrenalinu a noradrenalinu než k izoprenalinu, zatímco β -AR reagují více na izoprenalin než na adrenalin a noradrenalin. Prvním autorem, který odlišil dva základní typy AR, byl Ahlquist (v r. 1948). Byly popsány na základě různých účinků na tkáň: receptory nazvané jako α byly hlavně excitační, kromě střeva; receptory označené jako β byly hlavně inhibiční, kromě srdce. V Ahlquistově rozdělení se α -AR vyskytovaly na hladké svalovině, byly tedy postsynaptické.

Později byla skupina α -receptorů dále rozdělena na postsynaptické α_1 -AR, zprostředkávající odpověď v efektorových orgánech, a presynaptické α_2 -AR, regulující výlev neurotransmiteru (Starke, 1977). Po dalších proběhlých studiích bylo toto čistě anatomické rozdělení upraveno na rozdělení farmakologické, nezávislé na lokalizaci (Starke et al., 1979).

3.1. α_1 -AR

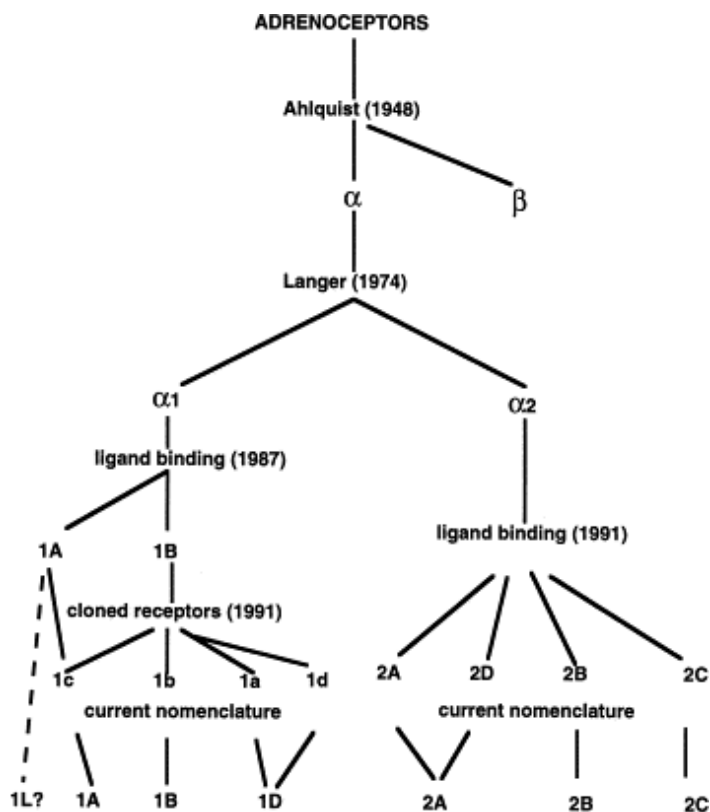
Další pokroky ve studiu AR přišly s vývojem nových metod – první z nich byla metoda vazebných pokusů s radioaktivně značenými ligandy: α_1 -AR byly zpočátku rozděleny na α_{1A} a α_{1B} subtypy, založeny na afinitě k různým ligandům, hlavně k WB4101 a prazosinu (Morrow et al., 1986), a na schopnosti inaktivace alkylačním činidlem chloroetyl-klonidin. Podle této klasifikace α_{1A} -AR zprostředkovávaly kontrakce chámovodu u myši a α_{1B} -AR byly ze sleziny myši (Han et al., 1987).

Převrat ve studiu α -AR způsobila molekulární biologie: klonovací techniky odhalily zpočátku čtyři podtypy α_1 -AR. První klonovaný podtyp byl α_{1b} , protein syntetizovaný podle tohoto genu odpovídal svými farmakologickými vazebnými vlastnostmi podtypu α_{1B} -AR (Cotecchia et al., 1988). Další byly α_{1a} -AR (Lomasney et al., 1991), α_{1c} -AR (Schwinn et al., 1990) a α_{1d} -AR (Perez et al., 1991), nicméně α_{1a} a α_{1d} vykazovaly 99,8% homologii a ukázalo se, že reprezentují tentýž podtyp nazývaný α_{1D} -AR, zatímco α_{1c} je identický s α_{1A} -AR vazebnými vlastnostmi a jsou nazývané jednotně α_{1A} -AR (Docherty, 1998).

3.2. α 2-AR

α 2-AR byly rozděleny do tří subtypů také na základě farmakologické analýzy a klonování: na α 2A-AR, α 2B-AR a α 2C-AR (Lorenz et al., 1990). Původně byl popsán ještě čtvrtý typ α 2D-AR u potkana, ale dnes jsou považovány za totožné s α 2A-AR u člověka, pouze identifikované v jiných druzích (Hieble et al., 1995).

Celkem AR-rodina zahrnuje devět genových produktů: tři α 1 (α 1a, α 1b, α 1d), tři α 2 (α 2a, α 2b, α 2c) a tři β (β 1, β 2, β 3) subtypy (14. 5. 2014. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=4>). Historický vývoj klasifikace α -AR je znázorněn na obr. 1.

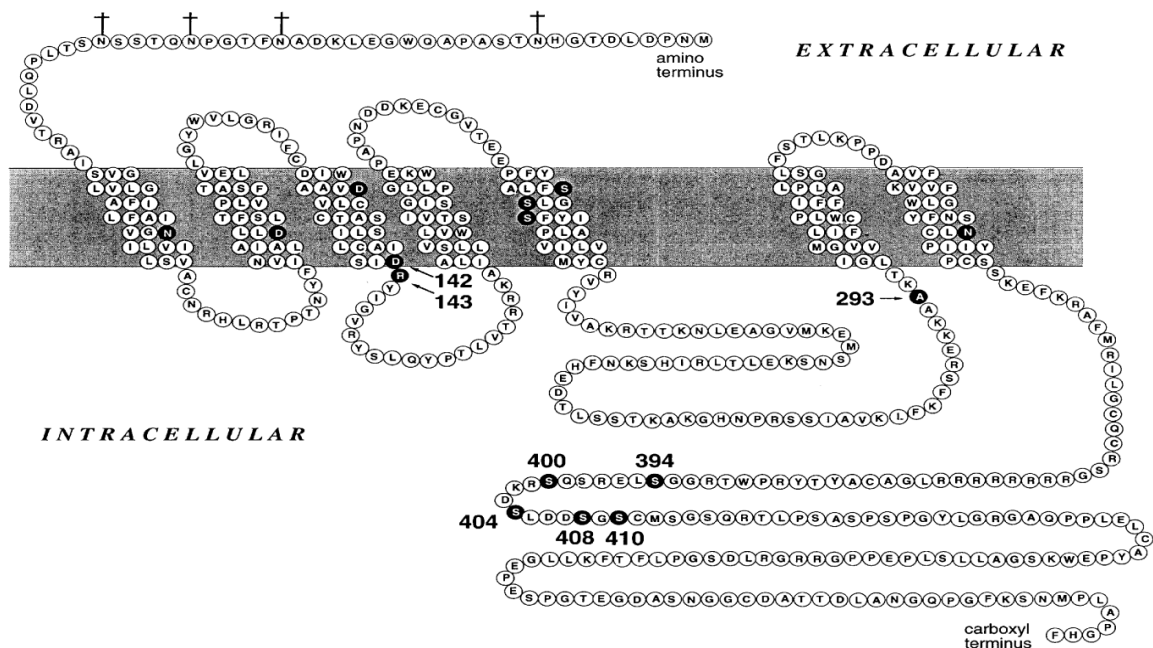


Obr. 1: Schematické znázornění historického vývoje klasifikace α -AR, α 1L-AR je pravděpodobně odvozený od α 1A-AR genu a je fenotypově α 1A-AR (Docherty, 1998).

4. Struktura α -AR

α -AR patří do nad-rodiny receptorů spřažených s G-proteiny (GPCR). Společným znakem GPCR je sedm domén procházejících membránou (TMD) – tyto homologické oblasti obsahují sekvence hydrofobních aminokyselin. GPCR patří mezi membránové glykoproteiny, kdy je jejich extracelulární N-konec glykosilován a C-konec je orientován intracelulárně. Jsou to dynamické struktury měnící konformaci podle navázaného ligandu (Insel, 1989). TMD tvoří šroubovice - alfa-helixy, které jsou v membráně uspořádané do kruhu, v jehož středu je vazebné místo pro ligand. Identifikaci aminokyselin (AK), které se účastní vazby ligandu, aktivace receptoru agonistou či interakce s G-proteinem, nejprve umožnily cílené mutace. Model uspořádání AK v α 1B-AR s vyznačením funkčních AK je znázorněn na obr. 2. Předpokládá se, že míra konzervovanosti aminokyselin odráží důležitost jejich zapojení v těchto procesech (Fraser, 1991).

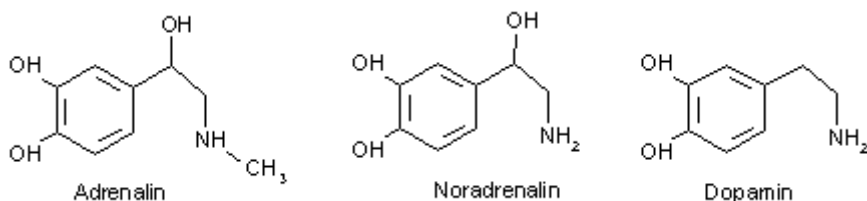
Skupina α -AR je v porovnání s β -AR strukturně i funkčně rozmanitější, přičemž α 1B-AR byl využit jako modelový systém pro studium ostatních GPCR (Cotecchia et al., 1998). Porovnáním strukturních vlastností α 1B-AR inaktivních mutantů, konstitutivně aktivních mutantů a nemodifikovaných AR byl sestaven model přechodu receptoru mezi inaktivním a aktivním stavem (Scheer et al., 1996).



Obr. 2: Topografický model α 1B-AR. Asp (D125) v TMD III a tři Ser (S207, S208 a S211) v TMD V se účastní vazby katecholaminů. Mutace A293 způsobuje navození konstitutivní aktivity receptoru. (Cotecchia et al, 1998)

Vazba ligandu

Endogenními ligandy AR jsou adrenalin a noradrenalin, které podle struktury řadíme spolu s dopaminem mezi katecholaminy (obr. 3).



Obr. 3: Struktura katecholaminů (14. 5. 2014. http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0150.htm)

Z hlediska jejich vazby k receptoru je důležitá protonovaná aminoskupina oddělená od katecholu řetězcem β -hydroxyetylu. K vazbě katecholaminu na AR dochází pomocí kombinace:

- elektrostatických interakcí - mezi aminoskupinou ligandu a karboxylovou skupinou aspartátu na TMD III receptoru (Asp na TMD III je vysoce konzervovaný ve všech GPCR vázicích ligandy s aminoskupinou) (Wang et al., 1991);
- vodíkových vazeb - mezi hydroxylovými skupinami (β -, meta- a para-) ligandu a serinovými zbytky na TMD V receptoru (Ser na TMD V jsou v rámci GPCR konzervované, ale jejich počet i role se u jednotlivých podtypů AR může lišit) (Hwa et al., 1996);
- van der Waalsových interakcí (Cavalli et al., 1996).

Výsledky studií prováděných pomocí cílených mutací jsou interpretovány metodami molekulární dynamiky. Pomocí těchto metod se vytváří počítačové simulace 3D modelů.

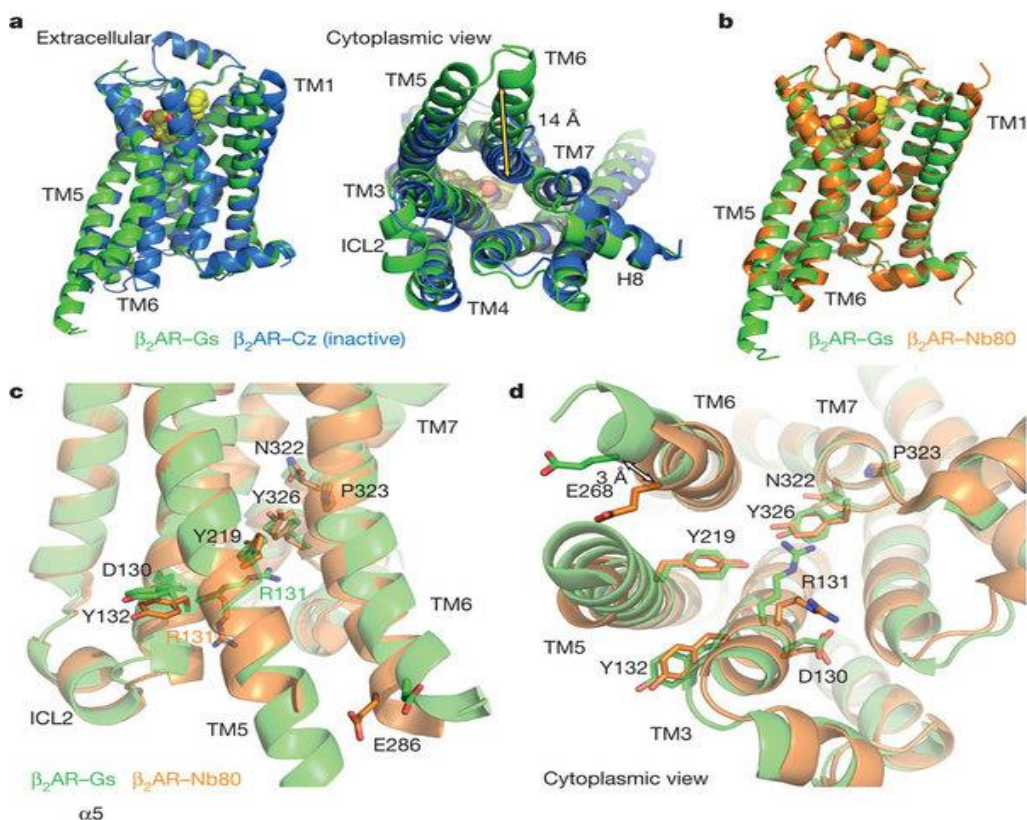
Spřažení s G-proteiny

Klíčovou roli v interakci AR s G-proteiny hraje pravděpodobně třetí intracelulární smyčka u $\alpha 1B$ -AR. V experimentu, ve kterém byla cílenou mutací odpovídající oblast $\beta 2$ -AR nahrazena částí z $\alpha 1B$ -AR, získal tento receptor schopnost aktivovat fosfolipázu C. Ukázalo se, že pro udělení této funkce stačí 27 zbytků aminokyselin ve třetí intracelulární smyčce (233-259). Tato záměna však nevedla k inhibici schopnosti $\beta 2$ -AR aktivovat adenylátcyklázu. Ačkoliv je třetí intracelulární smyčka hlavní částí, která zprostředkovává interakci s G-proteiny, jsou do tohoto děje zapojeny i další strukturální domény receptoru (Cotecchia et al., 1992).

Mutace v alaninu A293 nebo kys. asparagové D142 významně zvyšují konstitutivní aktivitu receptoru (Kjelsberg et al., 1992). V živých systémech existuje rovnováha mezi aktivním a inaktivním stavem GPCR. Vlastnosti konstitutivně aktivního receptoru jsou totožné s vlastnostmi receptoru v aktivním stavu - je charakterizován vysokou afinitou k agonistům a vede k aktivaci efektoru zprostředkovanou G-proteinem. Mutace ve zmíněných aminokyselinách způsobují konformační změny receptoru tak, že napodobují receptory nemutované v aktivním stavu před navázáním agonisty (De Lean et al., 1980).

Zatím nebyl proveden úplný popis molekulární struktury při změnách mezi aktivním a inaktivním stavem. Jedním z největších limitací je pravděpodobně problém v určení trojrozměrné struktury GPCR - obtížná purifikace a krystalizace. Musí se tedy využívat různé přístupy biochemické, biofyzikální, farmakologické, atd. Kombinováním metod se tvoří pouze teoretické modely.

V poslední době byl již připraven krystal β_2 -AR spolu s navázaným difusibilním ligandem, což umožnilo poznat, jak je ligand prostorově orientován ve vazebném místě (Cherezov et al., 2007). Krystal aktivního stavu β_2 -AR s navázaným ligandem a G_s -proteinem je zobrazen na obr. 4.



Obr. 4: Krystalová struktura GPCR (β_2 -AR) - počítačová simulace (Rasmussen et al., 2011)

5. Přenos signálu

5.1. Ligandy

Malé chemické sloučeniny, které se váží vně buňky na receptor a ovlivňují jeho konformaci, nazýváme ligandy. Ligandy můžeme podle vlivu na receptor rozdělit na agonisty, kteří po vazbě změni konformaci receptoru tak, že dojde k přenosu signálu do buňky, antagonisty, kteří nevyvolávají buněčnou odpověď a inverzní agonisty, jejichž účinky jsou protichůdné účinkům agonistů.

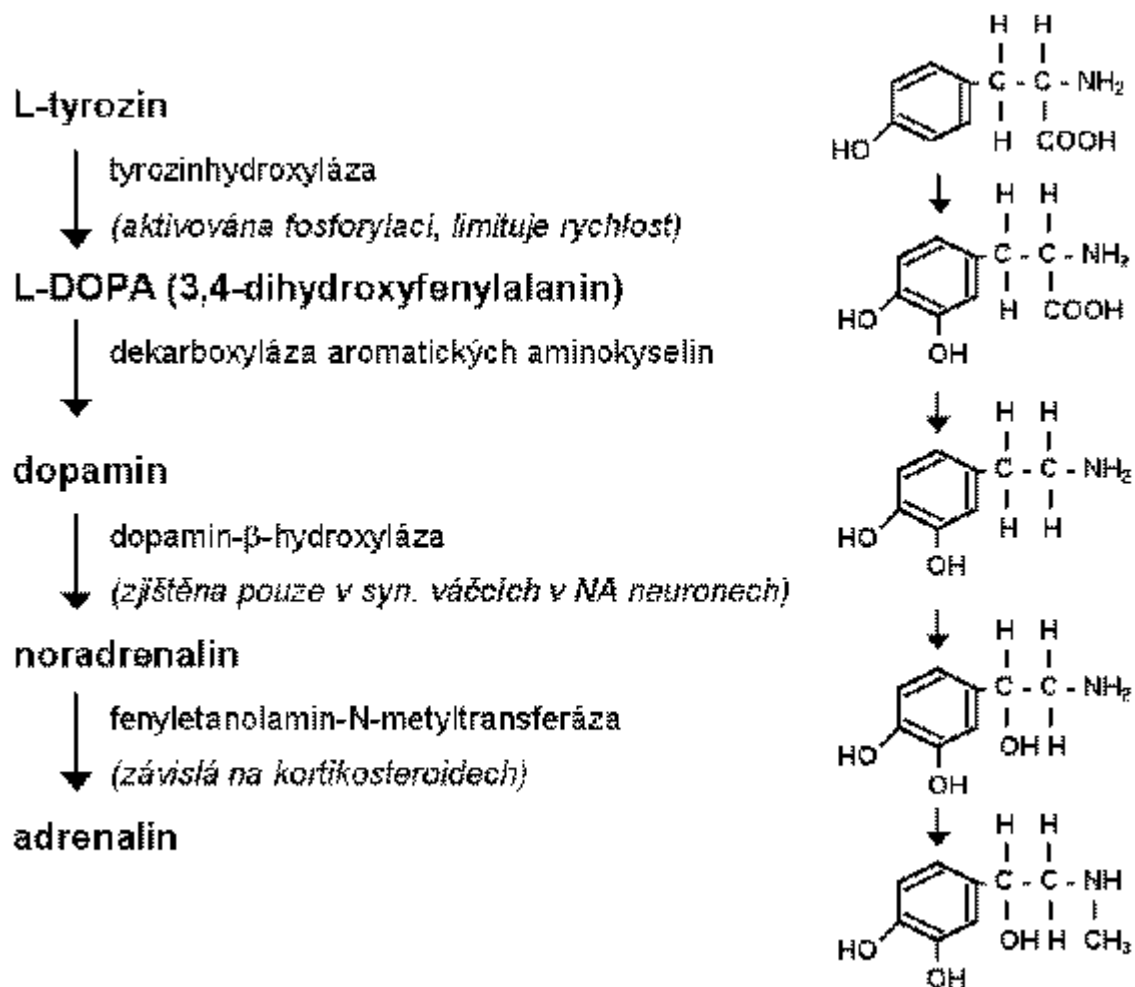
5.1.1. Endogenní katecholaminy

Z čistě chemického – strukturního hlediska jsou katecholaminy látky obsahující katechol (= benzen s dvěma hydroxylovými skupinami) a postranní řetězec s aminovou skupinou. Mezi katecholaminy patří adrenalin, noradrenalin a dopamin.

V organismu hrají roli jako neurotransmitery a hormony. Jsou produkovány chromafinními buňkami dřeně nadledviny (jež je vlastně zvláštním sympatickým gangliem), adrenergními postgangliovými neurony sympatiku nebo v centrálním nervovém systému. Jejich funkcí je zajištění spojení mezi neurony samotnými a mezi neurony a efektorovou tkání. Navzdory dlouhotrvajícímu a rozsáhlému výzkumu v oblasti katecholaminů, nejsou jejich metabolické dráhy ještě plně popsány (Napolitano et al., 2011).

Syntéza: Počátečním substrátem je tyrozin. Ten se tyrozinhydroxylázou hydroxyluje na 3,4-dihydroxyfenylalanin (L-DOPA), což je krok limitující rychlost celé syntézy. Poté DOPA-dekarboxyláza dekarboxyluje L-DOPA na dopamin. Ten se dopamin- β -hydroxylázou hydroxyluje na noradrenalin, ze kterého metylací fenyletanolamin-N-metyltransferázou vzniká adrenalin (obr. 5, str. 13).

Na rozdíl od téměř všech ostatních neurotransmiterů, míra biosyntézy katecholaminů (substrát tyrozin) a serotoninu (substrát tryptofan) je citlivá na lokální koncentraci substrátu, zejména v oblasti fyziologických koncentrací naměřených in vivo. Především má fyziologický vliv na syntézu substrátu v mozku vliv strava. Tento jev se projevuje u fenylketonurie, kdy je nefunkční enzym fenylalaninhydroxyláza, který u zdravých jedinců přeměňuje fenylalanin na tyrozin. Léčba spočívá ve vhodné úpravě stravy bez fenylalaninu (Fernstrom et al., 2007).



Obr. 5: Syntéza katecholaminů. Upraveno podle (14. 5. 2014 <http://psych.lf1.cuni.cz/bp/3.3.htm>)

5.1.2. Exogenní selektivní ligandy

Studie exprese α -AR poskytují informace o tom, kde jsou adrenoreceptory exprimovány, avšak nemůžeme na základě nich vyvodit závěry o fyziologických funkcích jednotlivých podtypů AR. Také studium receptorů pomocí metody vazebných pokusů s radioligandy umožňuje určit pouze lokalizaci receptorů. Identifikace různých rolí AR je založena zejména na farmakologických studiích. První farmakologické pokusy na rozlišení jednotlivých skupin začínaly pomocí jejich selektivních ligandů (Krulík et al., 1992). Tyto experimenty jsou však velice omezené nedostatkem úplně selektivních ligandů pro jednotlivé podtypy - používání agonisté a antagonisté jsou většinou jen částečně selektivní a ačkoli preferují vazbu na určitý podtyp, mohou se vázat i na další. Navzdory tomu, jak dlouho jsou již adrenoreceptory zkoumány, se ještě nepodařilo vyvinout čistě selektivní ligandy pro jednotlivé podtypy alfa-AR. Tabulky 1-3 shrnují nejčastěji používané radioligandy a podtypově selektivní ligandy AR.

Tab. 1: Používané radioligandy AR:

	agonisté	antagonisté
$\alpha 1$ -AR	Klonidin ($-H^3$)	Prazosin ($-H^3$)
$\alpha 2$ -AR		Rauwolscin ($-H^3$) Yohimbin ($-H^3$)

Upraveno podle (Krulík et al., 1992).

Tab. 2: Podtypově selektivní ligandy $\alpha 1$ -AR:

Sloučenina	Preference pro podtyp $\alpha 1$ -AR	Zdroj
(Chloroethyl-)klonidin	Interakce se všemi podtypy $\alpha 1/2$ -AR (selektivní alkylace $\alpha 1B$ -AR)	Michel et al., 1993
Prazosin	$\alpha 1A/B/C$ -AR antagonist	Morrow et al., 1986
WB4101, fentolamin	$\alpha 1A/B/C$ -AR inverzní agonista	Morrow et al., 1986
A61603	$\alpha 1A$ -AR agonista (200x účinnější než noradrenalin u kontrakci krysího chámovodu)	Knepper et al., 1995
RS 100329	$\alpha 1A$ -AR antagonist	Williams et al., 1999
Silodosin		Murata et al., 2000
Tamsulosin		Noble et al., 1997
Risperidon, cyclazosin	$\alpha 1B$ -AR antagonist	Sleight et al., 1993; Marruci et al., 2005
BMY 7378	$\alpha 1D$ -AR antagonist	Goetz et al., 1995
	$\alpha 1C$ -AR antagonist	Cleary et al., 2005

Upraveno podle (Docherty, 2010)

Tab. 3: Podtypově selektivní ligandy $\alpha 2$ -AR.

Sloučenina	Preference pro podtyp α 2-AR	Zdroj
Oxymetazolin	α 2A/D agonista	McCune et al., 2004
ST-91 (analog klonidinu), dexmedetomidin, rilmenidin	α 2B/C agonista	Nazarian et al., 2008
BRL 44408, BRL 48962	α 2A/D antagonist	Meana et al., 1996
ARC-239, imiloxan, prazosin	α 2B/C antagonist	Meana et al., 1996; Honner et al., 1999
Rauwolscin, MK-912	α 2C antagonist	Calzada et al., 2001; Odagaki et al., 2008
Yohimbin, idazoxan	α 2A/D, α 2B/C antagonist	Meana et al., 1996; Odagaki et al., 2008
Atipamezol	α 2A/D, α 2B/C antagonist	Winter et al., 1992

Převzato (Gyires et al., 2009)

Mnoho ligandů α 2-AR obsahuje imidazolovou skupinu (klonidin, ST-91, oxymetazolin, rilmenidin, dexmedetomidin). Ukázalo se, že např. hypotenzní odpověď zprostředkovávají spíše „imidazol-vazebná“ místa, než přímo α 2-AR (Bousquet et al., 1992).

Z důvodu nedostatku úplně selektivních agonistů a antagonistů se k objasnění funkcí jednotlivých podtypů AR využívají alternativní postupy, a to geneticky modifikované organismy. Ty mají odstraněný gen pro určitý podtyp (či více genů pro více podtypů současně) – gene knock-out (KO) organismy. Nicméně interpretace poznatků z experimentů na KO organismech je složitá. Je nutné brát ohled na komplexitu a heterogenitu organismů. Děje probíhající pomocí adrenoreceptorů jsou regulovány a kompenzovány dalšími mechanismy v buňce. Změna exprese určitého receptoru může změnit expresi, metabolismus nebo regulaci jiného receptoru a jeho neurotransmiteru (Kable et al., 2000). Výsledky získané z KO organismů musí být posuzovány v porovnání s geneticky nemodifikovanými organismy - wild-type (WT) organismy.

5.1.3. Inverzní agonisté

Některé ligandy α -AR se mohou chovat také jako inverzní agonisté, tzn. nejen blokují procesy vyvolané agonisty, ale navíc redukují bazální konstitutivní aktivitu receptorů spřažených s G-proteiny v nepřítomnosti agonistů. Čistí či neutrální antagonisté, nezasahují do bazální konstitutivní aktivity receptorů.

Mnoho studií zkoumalo vyvolání kontrakcí opětovným přidáním vápníku po vyčerpání internálních zásob vápníku bez přítomnosti agonistů $\alpha 1$ -AR. Byl sledován vliv na klidové napětí, které odráží konstitutivní aktivitu $\alpha 1$ -AR. Benoxathian a WB4101 selektivně inhibují kontraktlní odpověď - účinkují jako inverzní agonisté. Tyto látky se staly univerzálním modelem pro studium inverzního agonismu (Noguera et al., 1996). K tomuto jevu dochází u potkana v aortě a kyčelních a proximálních mesenterických tepnách (Ziani et al., 2002), ale ne v ocasní tepně (Gisbert et al., 2003).

Dospělo se k závěru, že k fenoménu kontrakce po opětovném přidání vápníku docházelo jen u $\alpha 1D$ -AR, jelikož tyto adrenoreceptory jsou konstitutivně aktivní (Gisbert et al., 2003; McCune et al., 2000). Studie na hladké svalovině tepen u člověka potvrdily, že $\alpha 1D$ -AR jsou spojeny se zvýšenou hladinou intracelulárního vápníku (García-Cazarín et al., 2008).

5.2. G-proteiny

α -AR mohou interagovat s různými G-proteiny, jejichž aktivované α -podjednotky vyvolávají změny v efektorech:

$\alpha 1$ -AR

- $G_{q/11}$ (pertusis-toxin nesenzitivní) - zvýšení aktivity fosfolipázy C (PLC)
- G_q - zvýšení aktivity fosfolipázy D (PLD)
- $G_q, G_i/G_0$ (pertusis-toxin senzitivní) - zvýšení aktivity fosfolipázy A_2
- G_q - zvýšení aktivity Ca^{2+} kanálu

(14. 05. 2014. IUPHAR database (IUPHAR-DB))

$\alpha 2$ -AR

- inhibiční G_i/G_0 - snížení aktivity adenylátcyklázy (AC)
- stimulační G_s - zvýšení aktivity AC

(Eason et al., 1992)

Rovněž β/γ komplex se účastní přenosu signálu. Může přímo aktivovat adenylátcyklázu a je schopný přímo ovlivňovat některé typy iontových kanálů.

5.3. Druzí poslové

Aktivace efektorového systému způsobuje změnu koncentrace druhých poslů, kteří předávají signál další signální či cílové molekule.

$\alpha 1$ -AR

Hlavní fyziologickou funkcí $\alpha 1$ -AR je kontrakce hladkých svalů. Existuje více možností, jak může aktivovaný $\alpha 1$ -AR vyvolat kontraktilní odpověď:

1. mobilizací Ca^{2+} , který aktivuje kinázu lehkého řetězce myozinu

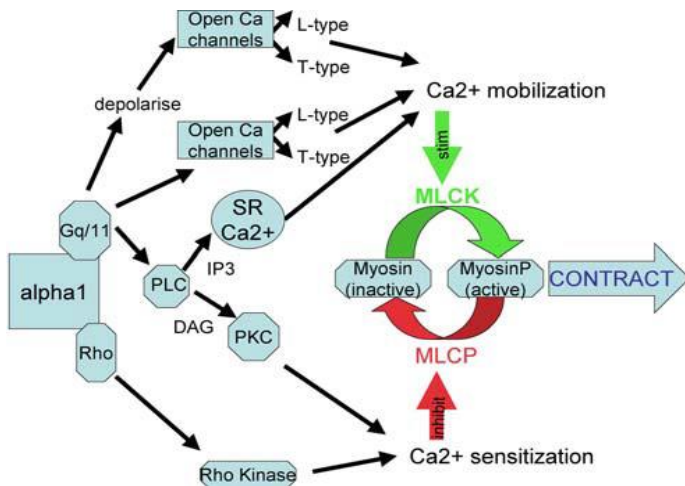
Hlavní cestou je uvolnění Ca^{2+} z intracelulárních zdrojů. Zvýšením aktivity fosfolipázy C vznikají dva druzí poslové - 1,2-diacylglycerol (DAG) a inositol-1,4,5-trifosfát (IP3), který vyvolá uvolnění Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula.

Další variantou je vstup Ca^{2+} z extracelulárních zdrojů, což umožňuje otevření Ca^{2+} kanálů L-typu či T-typu. K otevření kanálů dochází dvěma způsoby, buď zprostředkovaně depolarizací membrány, a nebo přímým působením aktivního G-proteinu na příslušný iontový kanál (Chen et al., 1995).

2. senzitivací kontraktilního aparátu k Ca^{2+}

Kdy vzniklý DAG stimuluje aktivitu proteinkinázy C, což následně vede k inhibici fosfatázy lehkého řetězce myosinu (Minneman, 1988).

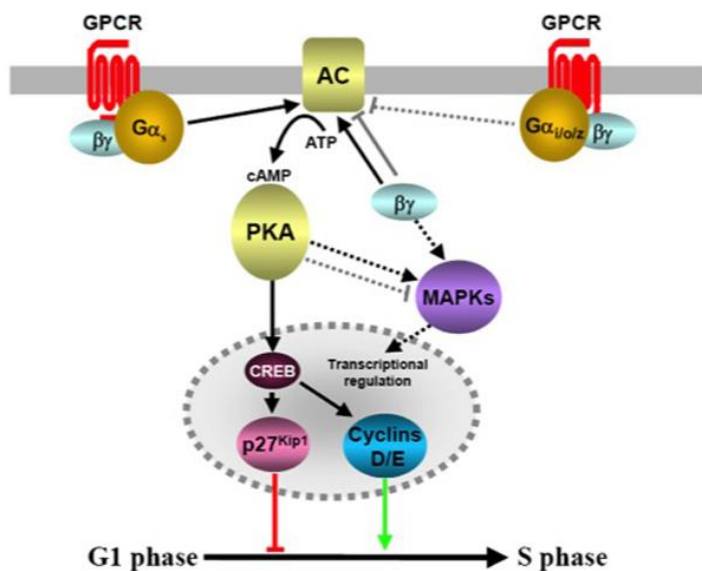
Svalovou kontrakci následně umožňuje fosforylovaný lehký řetězec myozinu. Jednotlivé cesty aktivace kontrakce hladkých svalů $\alpha 1$ -AR jsou názorně zobrazeny na obr. 6, str. 18.



Obr 6: Schematické znázornění vyvolání kontrakce hladkých svalů aktivací $\alpha 1$ -AR. SR-sarkoplazmatické retikulum, PLC-fosfolipáza C, IP3-inositol-trifosfát, DAG-diacylglycerol, PKC-proteinkináza C, MLCK- kináza lehkého řetězce myozinu, MLCP-fosfatáza lehkého řetězce myozinu (Docherty, 2010)

$\alpha 2$ -AR

Klíčovým druhým poslem je cyklický adenosinmonofosfát (cAMP). Podjednotky G-proteinu inhibují adenylátcyklázu, čímž se sníží hladina intracelulárního cAMP, který produkuje. Dochází k inhibici proteinkinázy A (PKA), čímž jsou inhibovány všechny dráhy závislé na PKA. Na obr. 7 je znázorněn příklad inhibice PKA.



Obr. 7: Schematické znázornění ovlivnění aktivity adenylátcyklázy GPCR. GPCR-receptor zpražený s G-proteinem, AC-adenylátcykláza, PAK-proteinkináza A, MAPKs-mitogenem aktivované proteinkinázy, CREB- cAMP response element-binding protein

(14. 5. 2014 <http://sakmarlab.org/Tools/HTS/Figure3.html>).

Předpokládá se, že při nízké koncentraci agonisty α_2 -AR snižují koncentraci cAMP v buňce, zatímco vysoké koncentrace agonisty mají za následek zvýšení koncentrace cAMP (Jones et al., 1991). Bylo popsáno, že α_2 -AR se mohou též účastnit kontrakce hladkých svalů. Ukazuje se však, že signální dráha zahrnující cAMP jakožto druhého posla pravděpodobně není primární při vyvolání kontraktlní odpovědi v hladkém svalstvu. Byly popsány dráhy zprostředkované zabráněním vstupu Ca^{2+} či naopak otevřením K^+ kanálů (Docherty, 1998).

6. Fyziologické funkce AR

6.1. Funkce α_1 -AR

α_1 -AR jakožto stimulační receptory zprostředkovávají zejména kontrakci hladké svaloviny a v oběhovém systému hrají hlavní roli v kontrole krevního tlaku. Při poklesu krevního tlaku z důvodů jako je krvácení apod. se aktivuje baroreceptorový reflex, který v důsledku vede k vasokonstrikci (= stažení cév) v poškozeném řečišti, hlavně u útrobních a kožních cév. Agonistou zprostředkované vasokonstrikce může být používáno v léčbě hypotenze (= nízkého krevního tlaku) a je jí široce využito u dekonstant, léků určených k odstranění zduření nosní sliznice, účinkující omezením průtoku krve (Docherty, 2010).

Funkcí α_1 -AR v jiných tkáních je hlavně bronchokonstrikce (= zúžení průdušek), konstrikce svěračů v gastrointestinálním traktu, sekrece slin, předpokládá se, že jsou důležité v regulaci metabolismu lipidů (Ulahannan et al., 2002).

Mezi procesy zprostředkované α_1 -AR v oku patří rozšíření pupily kontrakcí svalu dilator pupillae, což zvyšuje množství světla, které může sítnice přijmout. Dále agonisté α_1 -AR způsobují snížení nitroočního tlaku, účinkují zejména omezením průtoku krve (Michel et al., 2006).

α_1 -AR v urogenitálním systému vyvolávají kontrakci krčku močového měchýře, a tím inhibici močení (Chen et al., 2005). Hustota α_1 -AR v krčku močového měchýře je větší u mužů, pravděpodobně z důvodu prevence retrográdní ejakulace do měchýře (Sanbe et al., 2007). Dále α_1 -AR zprostředkovávají kontrakci chámovodů a semenných váčků u mužů, společně s purinergním receptorem P2X1 (Mulryan et al., 2000).

Benigní hyperplazie prostaty, která postihuje čím dál více mužů, způsobuje mimo jiné problémy s močením. Přerušované močení je zapříčiněno statickou složkou – stlačení močové trubice zvětšenou prostatou a složkou dynamickou – $\alpha 1$ -AR zprostředkovanou kontrakcí krčku močového měchýře a močové trubice. Léčbu benigní hyperplazie prostaty tak mohou umožnit $\alpha 1$ -AR selektivní antagonisté a zatím je ve vývoji (Furuya et al., 1982).

6.1.1. $\alpha 1A$ -AR

Modelovou tkání pro studium $\alpha 1A$ -AR jsou podčelistní žlázy potkana (Bexis et al., 2009), které ovšem můžou osahovat i $\alpha 1B$ -AR (Bruchas et al., 2008).

$\alpha 1A$ -AR částečně zprostředkovávají kontrakce hladké svaloviny v chámovodu a ve slezině u potkana (Aboud et al., 1993; Burt et al., 1998, 1995; Noble et al., 1997), v renální a ocasní tepně u potkana - společně s $\alpha 1D$ -AR (Villalobos-Molina et al., 1996, 1997), v levé síni u potkana (Yu et al., 1994), v ušní tepně u králíka (Fagura et al., 1997), ve vnitřním análním svěrači u prasete (Mills et al., 2008), v chámovodu u člověka (Furukawa et al., 1995; Moriyama et al., 1997), v prostatě u člověka (Marshall et al., 1995) - společně s $\alpha 1B$ -AR (Teng et al., 1994) a $\alpha 1D$ -AR (Kojima et al., 2006).

V chámovodu u potkana $\alpha 1A$ -AR vyvolávají dva typy odpovědí: fázickou (pravděpodobně v důsledku vylití Ca^{2+} z ryanodin-senzitivních uložišť) a tonickou (přes PKC, DAG a výlev Ca^{2+} přes nifedipin-senzitivní kanály L-typu) (Burt et al., 1998). $\alpha 1A$ -AR vyvolávají spolu s $\alpha 1B$ -AR pozitivní ionotropní odpovědi na fenylefrin u myši (Ross et al., 2003).

K objasnění funkcí $\alpha 1A$ -AR se široce používají KO technologie:

U myši s odstraněným genem pro $\alpha 1A$ -AR docházelo ke kontrakcím v porovnání s WT myši minimálně (Gray et al., 2008). Naopak nadměrná exprese $\alpha 1A$ -AR v srdci způsobila nárůst kontrakcí zprostředkovaných β -AR a obecně zlepšila klinické výsledky sledování infarktu myokardu (Woodcock, 2007).

6.1.2. $\alpha 1B$ -AR

Modelovou tkání pro studium $\alpha 1B$ -AR je slezina potkana (Bexis et al., 2009). Podčelistní žlázy potkana obsahují jak $\alpha 1A$, tak $\alpha 1B$ -AR, ale sekreci slin vyvolávají hlavně $\alpha 1B$ -AR (Bruchas et al., 2008).

$\alpha 1B$ -AR částečně zprostředkovávají kontrakce hladké svaloviny v chámovodu a ve slezině u potkana (Aboud et al., 1993; Burt et al., 1998, 1995; Noble et al., 1997), ve slezině u myši (Eltze, 1996), v levé síni u potkana - společně s $\alpha 1A$ -AR (Yu et al., 1994), v kožních rezistenčních tepnách u králíka (Smith et al., 1997), v prostatě u člověka (Teng et al., 1994) - společně s $\alpha 1A$ -AR (Marshall et al., 1995) a $\alpha 1D$ -AR (Kojima et al., 2006).

K objasnění funkcí $\alpha 1B$ -AR se využívají KO technologie:

U myši s odstraněným genem pro $\alpha 1B$ -AR myši došlo v porovnání s WT myši k mírné redukci schopnosti vyvolat odpověď na adrenalin či noradrenalin v aortě (Cavalli et al., 1997). Podle jiných autorů nedošlo k signifikantní změně v potenci (Hosoda et al., 2005). U kombinované delece $\alpha 1B/D$ -AR byla zhoršena kontraktilní odpověď na noradrenalin či fenylefrin, a to ve větší míře, než při samotném $\alpha 1D$ -KO (Hosoda et al., 2005).

V aortě a ocasní tepně u myši hrají $\alpha 1B$ -AR minoritní roli v kontraktilních odpovědích (Daly et al., 2002). Přestože $\alpha 1B$ -KO myši vykazují pozměněnou kontraktilní odpověď v cévách, ukazuje se, že mají pouze regulační či trofickou funkci nebo jsou nezbytné na povrchu buněk pro expresi jiných podtypů α -AR (Uberti et al., 2003). Jejich absence tudíž může ovlivňovat kontrakce nepřímo, přes jiné $\alpha 1$ -AR (Daly et al., 2002).

Nadměrná exprese $\alpha 1B$ -AR v srdci způsobila pokles kontrakcí zprostředkovaných β -AR, zvýšila predispozice k srdečním selháním (Woodcock, 2007) a způsobila hypertrofii srdečního svalu a hypotenzi (Zuscik et al., 2001). Nadměrnou expresí $\alpha 1B$ -AR v izolovaném myším srdci došlo ke snížení množství $\alpha 1A$ -AR, čímž se oslabil pozitivní ionotropní efekt fenylefrinu (Ross et al., 2003).

6.1.3. $\alpha 1D$ -AR

$\alpha 1D$ -AR alespoň částečně zprostředkovávají kontrakce hladké svaloviny v aortě, mesenterické, kyčelní a plicní tepně u potkana (Piasecik et al., 1995; Hussain et al., 1997], v renální, krční a ocasní tepně u potkana - společně s $\alpha 1A$ -AR (Villalobos-Molina et al., 1996), v aortě u králíka - společně s $\alpha 1A$ -AR (Fagura et al., 1997), v srdečních síních u králíka (Yang et al., 1997).

Kontraktilní odpověď na nervovou stimulaci zprostředkovávají zejména $\alpha 1D$ -AR v chámovodu u potkana (Cleary et al., 2004) i u myši (Bexis et al., 2008). Naproti tomu odpověď na exogenní noradrenalin zprostředkují převážně $\alpha 1A$ -AR (Aboud et al., 1993). Experiment na stehenních tepnách potkana toto tvrzení potvrdil (Zacharia et al., 2005).

K objasnění funkcí $\alpha 1D$ -AR se také využívají knockout technologie:

Studie na krčních tepnách u myši s odstraněným genem pro $\alpha 1D$ -AR ukázaly, že kontrakce zprostředkovávají zejména $\alpha 1D$ -AR, přičemž $\alpha 1B$ -AR zde hrají regulační roli (Deighan et al., 2005). Kontrakce v aortě u $\alpha 1D$ -KO myši byly značně redukovány, zatímco u $\alpha 1B$ -KO myši nebyly nijak ovlivněny. U kombinované delece $\alpha 1D/B$ -AR nedocházelo ke kontrakcím vůbec (Hosoda et al., 2005). Toto podporuje tvrzení o regulační/kooperační roli $\alpha 1B$ -AR. Nicméně nadměrná exprese $\alpha 1B$ -AR neovlivnila funkci $\alpha 1D$ -AR v aortě u myši (Chalothorn et al., 2003) ani v mesenterické tepně u myši (Zuscik et al., 2001).

Kromě kontrakcí hladké svaloviny cév mohou $\alpha 1D$ -AR vyvolávat také relaxaci závislou na endotelu. K Vasodilataci dochází po stimulaci fenylefrinem v mesenterickém cévním řečišti u potkana (Filippi et al., 2001). Zde mají $\alpha 1D$ -AR trofickou a růstovou funkci (Vinci et al., 2007).

6.2. Funkce $\alpha 2$ -AR

$\alpha 2$ -AR se účastní různých fyziologických funkcí hlavně v kardiovaskulárním systému a centrálním nervovém systému. Zejména jsou $\alpha 2$ -AR zapojeny do zpětnovazebné regulace uvolňování neurotransmiteru (Trendelenburg et al., 2003). Kromě dějů zprostředkovaných výhradně $\alpha 2$ -AR byla popsána noradrenergní aferentní vlákna v mediální preoptické oblasti, která se podílí na indukci spánku. Tento proces je ovládán kooperací $\alpha 2$ -AR a postsynaptických $\alpha 1$ -AR. $\alpha 2$ -AR exprimované v kůře mozečku se účastní koordinace pohybu (Hirono et al., 2008) a hrají významnou roli v termoregulačních mechanismech - aktivace noradrenergických vláken způsobuje pokles teploty těla (Kumar et al., 2007).

Agonisté $\alpha 2$ -AR jsou široce využívány v terapiích: aplikují se např. při léčbě hypertenze, glaukomu (= zeleného zákalu), či při poruchách pozornosti (Gyires et al., 2009), včetně poruch pozornosti s hyperaktivitou (ADHD) (Cho et al., 2008a,b). Antagonisté $\alpha 2$ -AR mohou vedle $\alpha 1$ -AR také přispívat při léčbě benigní hyperplázie prostaty (Constantinou et al., 1996).

6.2.1. $\alpha 2A$ -AR

Pro $\alpha 2A$ -AR je ze známých subtypů popsáno nejvíce funkcí.

V kardiovaskulárním systému mají agonisté $\alpha 2A$ -AR antihypertenzní účinek (= snížení krevního tlaku) a způsobují brachykardii (= zpomalení srdeční frekvence) u myši

(Altman et al., 1999). Delece v genu pro $\alpha 2A$ -AR měla za následek zvýšení krevního tlaku, zrychlení srdeční frekvence a predispozice k srdečním selháním u myši (Brede et al., 2002). Naproti tomu bylo ukázáno, že $\alpha 2A$ -AR se podílí na vasokonstrikci, a to alespoň částečně (MacMillian et al., 1996). $\alpha 2A$ -AR hrají klíčovou roli ve stabilizaci trombu (= krevní sraženina), u myši s odstraněným genem pro $\alpha 2A$ -AR se zprvu utvořený trombus rozpouštěl (Pozgajova et al., 2006).

V srdeční tkáni dochází k inhibici výlevu transmiteru aktivací $\alpha 2A$ -AR při vysoké frekvenci stimulace, zatímco aktivací $\alpha 2C$ -AR při nižších frekvencích (Hein et al., 1991; Scheibner et al., 2001) - stejně tak, jako v nervové tkáni (Hein et al., 1999). Při odebrání $\alpha 2A$ -AR a $\alpha 2C$ -AR v myším modelu dochází k nekontrolovatelnému uvolňování noradrenalinu, což vede k letální kardiomyopatii (Aggarwal et al., 2001; Hein et al., 1991).

V centrálním nervovém systému hrají $\alpha 2A$ -AR hlavní roli v presynaptické inhibici normálního uvolňování neurotransmiteru u myši - společně s $\alpha 2C$ -AR (Altman et al., 1999; Hein et al., 1999; Trendelenburg et al., 2003). $\alpha 2A$ -AR se účastní antinocicepce u myši (= protibolestivý efekt) (Hunter et al., 1997), citlivosti k anestetikům u myši (Lakhlani et al., 1997), křečových procesů u myši (Szot et al., 2004), hypotermického efektu u myši (Hunter et al., 1997). Post-synapticky $\alpha 2A$ -AR zvyšují lokální tok krve v prefrontálním kortexu a zvyšují aktivitu paměťových funkcí u opic - společně s $\alpha 2D$ -AR (Avery et al., 2000).

$\alpha 2A$ -AR agonisté mají sedativní účinky. Při delecí genu pro $\alpha 2A$ -AR byl sedativní efekt značně snížen, zatímco při odstranění genu pro $\alpha 2B$ -AR a $\alpha 2C$ -AR nebyl nijak změněn (Hunter et al., 1997).

V gastrointestinálním traktu $\alpha 2A$ -AR regulují bazální a vagálně stimulovanou sekreci žaludeční kyseliny u potkana (Blandizzi et al., 1995; Mullner et al., 2001) a gastrickou motilitu u potkana (Fulop et al., 2005; Zadori et al., 2007). V tenkém střevě se $\alpha 2A$ -AR účastní transportu iontů a sekreci tekutin u potkana (Hildebrand et al., 1993; Liu et al., 1997). Byla zjištěna zvýšená exprese $\alpha 2A$ -AR v místech nervosvalového spojení v tlustém i tenkém střevě, jak v zánětlivých, tak i v nepostižených oblastech střev u potkana (Blandizzi et al., 2003; 2007).

U syndromu dráždivého tračníku se zácpou (IBS-C) byla popsána asociace s polymorfismy $\alpha 2A$ -AR a $\alpha 2C$ -AR. Ztráta funkce presynaptických $\alpha 2A$ -AR v koncovém sympatickém nervstvu může umlčovat negativní zpětnou vazbu uvolňování noradrenalinu a

jeho zvýšené množství v synaptické štěrbině snižuje aktivitu cholinergních nervů, což způsobuje sníženou pohyblivost gastrointestinálního traktu (Gyires et al., 2009).

6.2.2. α 2B-AR

α 2B-AR jsou na rozdíl od ostatních α 2-adrenoreceptorů lokalizovány převážně postsynapticky (Docherty et al., 1998; Philipp et al., 2002). Hrají hlavní roli ve vyvolání vasokonstriční odpovědi na α 2-AR agonisty u myši (Link et al., 1996).

α 2B-AR zprostředkovávají převážně kontrakci dělohy v březosti u potkanů, na rozdíl od α 2A-AR a α 2C-AR, které naopak inhibují kontraktální odpověď na noradrenalin in vitro (Gaspar et al., 2007). α 2B-AR se účastní procesů ve vývoji či reprodukci, jelikož homozygotní delece genu pro α 2B-AR měla za následek zhoršení průběhu rozmnožování u potkanů (Gaspar et al., 2007).

α 2B-AR mají gastroprotektivní účinky - společně s α 2C-AR. Agonisté α 2B-AR způsobují inhibici slizničních lézí indukovaných etanolem u potkana. Tento efekt byl naopak blokován antagonisty prazosinem a ARC-239 (Gyires et al., 2007).

6.2.3. α 2C-AR

α 2C-AR jsou lokalizovány zejména v centrálním nervovém systému. Bylo zaznamenáno, že hrají roli v regulaci kortikálního vzrušení a jsou antagonisty k sedativním účinkům α 2A-AR u myši (Puolivali et al., 2002). α 2C-AR se účastní stresové odpovědi u depresí a aktivace těchto receptorů může mít pozitivní vliv v léčbě neuropsychických poruch (schizofrenie, posttraumatického šoku, závislosti na drogách, atd...) a onemocnění asociovaných s mechanismy úleku u myši (Scheinin et al., 2001). Nedostatek α 2C-AR je spojen se zvýšenou lokomoční aktivitou, úlekovou reakcí a agresí u myši (Sallinen et al., 1998). Předpokládá se souvislost mezi polymorfismem genu pro α 2C-AR a poruchou pozornosti s hyperaktivitou (Cho et al., 2008).

α 2C-AR se účastní regulace uvolňování transmiteru - společně s α 2A-AR - popsáno výše (Hein et al., 1999). Výhradně α 2C-AR jsou zapojeny do inhibice výlevu opioidů z dorzálního rohu míchy u potkana. Agonisté α 2-AR (klonidin, guanfacin, medetomidin a UK-14304) inhibují uvolnění opioidů, který má výrazné analgetické účinky (Chen et al., 2008).

V periférii jsou α 2C-AR minoritně zapojeny do hypotermických procesů u myši (Sallinen et al., 1997).

Ukázalo se, že α_2 C-AR zprostředkovávají žilní vasokonstrikci u člověka (Gavin et al., 1997) a v arteriální hladké svalovině se účastní vasokonstrikce vyvolané chladem (Chotani et al., 2000). Přesné mechanismy v hemodynamice však ještě nejsou známy.

Fyziologické funkce v různých orgánech a ligandy jednotlivých subtypů jsou stručně shrnuty v tab-4-5.

Tab. 4: Souhrn funkcí v tkáních a ligandy α_1 -AR

podtyp	1A	1B	1D
funkce	kontrakce v chámovodu + regulace tlaku krve u potkana	kontrakce ve slezině u potkana (společně s α_2)	kontrakce v aortě u potkana
tkáň	podčelistní žláza potkana	slezina potkana	
selektivní agonisté	Oxymetazolin, A61603		
selektivní antagonisté	RS 17053, SB216469		BMY 7378
citlivost k ostatním látkám		chloroethyl-klonidin (účinek i na ostatní podtypy)	
G-proteiny	$G_{q/11}$		

Převzato (Docherty, 1998)

Tab. 5: Souhrn funkcí v tkáních a ligandy α_1 -AR

podtyp	1A	1B	1D
funkce	kontrakce v chámovodu + regulace tlaku krve u potkana	kontrakce ve slezině u potkana (společně s α_2)	kontrakce v aortě u potkana
tkáň	podčelistní žláza potkana	slezina potkana	
selektivní agonisté	Oxymetazolin, A61603		

selektivní antagonisté	RS 17053, SB216469		BMY 7378
citlivost k ostatním látkám		chloroethyl-klonidin (účinek i na ostatní podtypy)	
G-proteiny	G _{q/11}		

Převzato (Docherty, 1998)

7. Závěr

Navzdory dlouhému a intenzivnímu výzkumu v oblasti α -AR, přesné mechanismy jejich funkce dosud nebyly plně objasněny. Bylo provedeno mnoho studií zaměřených na fyziologické funkce v jednotlivých orgánech, které jsou však prováděny zejména na modelových organismech (myších a potkanech). Ukázalo se, že obecně jsou α 1-AR hlavně postsynaptické a zprostředkovávají kontraktilní odpovědi ve hladkém svalstvu a vasokonstrikci, zatímco α 2-AR jsou hlavně presynaptické a je pro ně typická zpětnovazebná regulace výlevu neurotransmiteru. Studium vzájemného ovlivňování signálních kaskád se stalo přínosným především ve farmakologii, kde se využívá široká škála léčiv jak tlumících (sympatolityka) tak stimulujících sympatický nervový systém (sympatomimetika). S rozvojem nových metod se výzkum poslední době zaměřuje také na molekulární strukturu α -AR, což představuje velký potenciál do budoucna.

8. Seznam literatury

- Aboud R.W., Shafii M., Docherty J.R. (1993) Investigations of the subtypes of alpha1-adrenoceptor mediating contractions of rat aorta, vas deferens and spleen. *Br J Pharmacol* 109: 80–87
- Aggarwal A., Esler M.D., Socratous F., Kaye D.M. (2001) Evidence for functional presynaptic alpha-2 adrenoceptors and their down-regulation in human heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 37: 1246–1251
- Ahlquist R.P. (1948) A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153: 586–600
- Altman J.D., Trendelenburg A.U., MacMillan L., Bernstein D., Limbird L., Starke K., Kobilka B.K., Hein L. (1999) Abnormal regulation of the sympathetic nervous system in alpha2A-adrenergic receptor knockout mice. *Mol Pharmacol* 56: 154–161
- Avery R.A., Franowicz J.S., Studholme C., van Dyck C.H., Arnsten A.F. (2000) The alpha-2A-adrenoceptor agonist, guanfacine, increases regional cerebral blood flow in dorsolateral prefrontal cortex of monkeys performing a spatial working memory task. *Neuropsychopharmacology* 23: 240–249
- Bexis S., Cleary L., McGrath J.C., Tanoue A., Tsujimoto G., Docherty J.R. (2008) Alpha(1D)-adrenoceptors mediate nerve and agonist-evoked contractions in mouse vas deferens: evidence obtained from knockout technology. *Auton Autacoid Pharmacol* 28: 81–85
- Bexis S., Docherty J.R. (2009) Role of alpha1- and beta3-adrenoceptor subtypes in the modulation by SR59230A of the effects of MDMA on body temperature in the mouse. *Br J Pharmacol* 158: 259–266
- Blandizzi C. (2007) Enteric alpha-2 adrenoceptors: pathophysiological implications in functional and inflammatory bowel disorders. *Neurochem Int* 51: 282–288
- Blandizzi C., Fornai M., Colucci R., Baschiera F., Barbara G., de Giorgio R., de Ponti F., Breschi M.C., Del Tacca M. (2003) Altered prejunctional modulation of intestinal cholinergic and noradrenergic pathways by alpha2-adrenoceptors in the presence of experimental colitis. *Br. J Pharmacol* 139: 309–320
- Blandizzi C., Natale G., Colucci R., Carignani D., Lazzeri G., Del Tacca M. (1995) Characterization of alpha 2-adrenoceptor subtypes involved in the modulation of gastric acid secretion. *Eur J Pharmacol* 278: 179–182
- Bousquet P., Feldman J., Tibirica E., Bricca G., Grenay H., Dontenwill M., Stutzmann J., Belcourt A. (1992) Imidazoline receptors. A new concept in central regulation of the arterial blood pressure. *Am J Hypertens* 5: 47S–50S
- Brede M., Wiesmann F., Jahns R., Hadamek K., Arnolt C., Neubauer S., Lohse M.J., Hein L. (2002) Feedback inhibition of catecholamine release by two different alpha2-adrenoceptor subtypes prevents progression of heart failure. *Circulation* 106: 2491–2496

Bruchas M.R., Toews M.L., Bockman C.S., Abel P.W. (2008) Characterization of the alpha1-adrenoceptor subtype activating extracellular signal-regulated kinase in submandibular gland acinar cells. *Eur J Pharmacol* 578: 349–358

Burt R.P., Chapple C.R., Marshall I (1995) Evidence for a functional alpha1A- (alpha1C-) adrenoceptor mediating contraction of rat epididymal vas deferens and an alpha1B-adrenoceptor alpha1-adrenoceptor subtypes 413 mediating contraction of the rat spleen. *Br J Pharmacol* 115: 467–475

Burt R.P., Chapple C.R., Marshall I. (1998) Alpha1A-Adrenoceptor mediated contraction of rat prostatic vas deferens and the involvement of ryanodine stores and Ca²⁺ influx stimulated by diacylglycerol and PKC. *Br J Pharmacol* 123: 317–325

Calzada B.C., De Artinano A.A. (2001) Alpha-adrenoceptor subtypes. *Pharmacol Res* 44: 195–208

Cavalli A., Fanelli F., Taddei C., De Benedetti P.G., Cotecchia S. (1996) Amino acids of the alpha1B-adrenergic receptor involved in agonist binding: differences in docking catecholamines to receptor subtypes. *FEBS Lett* 399: 9

Cavalli A., Lattion A., Hummler E., Nenninger M., Pedrazzini T. (1997) Decreased blood pressure response in mice deficient of the alpha 1b-adrenergic receptor. *Proc Nat Acad Sci USA* 94: 11589–11595

Cleary L., Murad K., Bexis S., Docherty J.R. (2005) The alpha (1D)-adrenoceptor antagonist BMY 7378 is also an alpha (2C)-adrenoceptor antagonist. *Auton Autacoid Pharmacol* 25: 135–141

Cleary L., Slattery J., Bexis S., Docherty J.R. (2004) Sympathectomy reveals alpha1A- and alpha1D-adrenoceptor components to contractions to noradrenaline in rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 143: 745–752

Cotecchia S., Ostrowski J., Kjelsberg M.A., Caron M.G., Lefkowitz R.J. (1992) Discrete amino acid sequences of the alpha 1-adrenergic receptor determine the selectivity of coupling to phosphatidylinositol hydrolysis. *J Biol Chem* 267: 1633-9

Cotecchia S., Scheer A., Diviani D., Fanelli F., De Benedetti P.G. (1998) Molecular mechanisms involved in the activation and regulation of the alpha 1-adrenergic receptor subtypes. *Farmacol* 53: 273-7

Cotecchia S., Schwinn D.A., Randall R.R., Lefkowitz R.J., Caron M.G., Kobilka B.K. (1988) Molecular cloning and expression of the cDNA for the hamster alpha1-adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 7159–7163

Daly C.J., Deighan C., McGee A., Mennie D., Ali Z., McBride M., McGrath J.C. (2002) A knockout approach indicates a minor vasoconstrictor role for vascular alpha1B-adrenoceptors in mouse. *Physiol Genomics* 9: 85–91

De Lean A., Stadel J.M., Lefkowitz R.J. (1980) A ternary complex model explain the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. *J Biol*

Chem 255: 7108-17

Deighan C., Methven L., Naghadeh M.M., Wokoma A., Macmillan J., Daly C.J., Tanoue A., Tsujimoto G., McGrath J.C. (2005) Insights into the functional roles of alpha(1)-adrenoceptor subtypes in mouse carotid arteries using knockout mice. *Br J Pharmacol* 144: 558-65

Docherty J.R. (1998) Subtypes of functional alpha1- and alpha2-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 361: 1-15

Docherty J.R. (2010) Subtypes of functional alpha1- and alpha2-adrenoreceptors. *Cell Mol Life Sci* 67: 405-417

Eason M.G., Kurose H., Holt B.D., Raymond J.R., Liggett S.B. (1992) Simultaneous coupling of alpha 2-adrenergic receptors to two G-proteins with opposing effects. Subtype-selective coupling of alpha 2C10, alpha 2C4, and alpha 2C2 adrenergic receptors to Gi and Gs. *J Biol Chem* 267: 15795-15801

Eisenhofer G., Kopin I.J., Goldstein D.S. (2004) Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacol Rev* 56: 331-49

Eltze M. (1996) Functional evidence for an alpha1B-adrenoceptor mediating contraction of the mouse spleen. *Eur J Pharmacol* 311: 187-198

Fagura M.S., Lydford S.J., Douggall I.G. (1997) Pharmacological classification of alpha1-adrenoceptors mediating contractions of rabbit isolated ear artery: comparison with rat isolated thoracic aorta. *Br J Pharmacol* 120: 247-258

Fernstrom J.D., Fernstrom M.H. (2007) Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *Journal of Nutrition* 137: 1539S-1547S

Filippi S., Parenti A., Donnini S., Granger H.J., Fazzini A., Ledda F. (2001) Alpha(1D)-adrenoceptors cause endothelium-dependent vasodilatation in the rat mesenteric vascular bed. *J Pharmacol Exp Ther* 296: 869-875

Fraser C.M. (1991) Molecular biology of adrenergic receptors: model systems for the study of G-protein-mediated signal transduction. *Blood Vessels* 28: 93-103

Fulop K., Zadori Z., Ronai A.Z., Gyires K. (2005) Characterisation of alpha2-adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying, gastric motility and gastric mucosal defence. *Eur J Pharmacol* 528: 150-157

Furukawa K., Rosario D.J., Smith D.J., Chapple C.R., Uchiyama T., Chess-Williams R. (1995) Alpha1A-adrenoceptor-mediated contractile responses of the human vas deferens. *Br J Pharmacol* 116: 1605-1610

Furuya S., Kumamoto Y., Yokoyama E., Tsukamoto T., Izumi T., Abiko Y. (1982) Alpha-adrenergic activity and urethral pressure in prostatic zone in benign prostatic hypertrophy. *J Urol* 128: 836-839

- García-Cazari'n M.L., Smith J.L., Olszewski K.A., McCune D.F., Simmerman L.A., Hadley R.W., Kraner S.D., Michael T., Piascik M.T. (2008) The $\alpha 1D$ -adrenergic receptor is expressed intracellularly and coupled to increases in intracellular calcium and reactive oxygen species in human aortic smooth muscle cells. *J Mol Signal* 3: 6
- Gaspar R., Gal A., Galik M., Ducza E., Minorics R., Kolarovszki-Sipiczki Z., Klukovits A., Falkay G. (2007) Different roles of $\alpha 2$ -adrenoceptor subtypes in non-pregnant and late-pregnant uterine contractility in vitro in the rat. *Neurochem Int* 51: 311–318
- Gavin K.T., Colgan M.P., Moore D., Shanik G., Docherty J.R. (1997) $\alpha 2$ Adrenoceptors mediate contractile responses to noradrenaline in the human saphenous vein. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 355: 406–411
- Gisbert R., Pe'rez-Vizcaino F., Cogolludo A.L., Noguera M.A., Ivorra M.D., Tamargo J., D'Ocon P. (2003) Cytosolic Ca^{2+} and phosphoinositide hydrolysis linked to constitutively active $\alpha 1D$ -adrenoceptors in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 305: 1006–1014
- Goetz A.S., King H.K., Ward S.D.C., True T.A., Rimele T.J., Saussy D.L. (1995) BMY 7378 is a selective antagonist of the D subtype of $\alpha 1$ -adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 272: R5–R6
- Gray K., Short J., Ventura S (2008) The $\alpha 1A$ -adrenoceptor gene is required for the $\alpha 1L$ -adrenoceptor-mediated response in isolated preparations of the mouse prostate. *Br J Pharmacol* 155: 103–109
- Gyires K., Zadori Z.S., Shujaa N., Minorics R., Falkay G., Matyus P. (2007) Analysis of the role of central and peripheral $\alpha 2$ -adrenoceptor subtypes in gastric mucosal defense in the rat. *Neurochem. Int.* 51: 289–296
- Gyires K., Zádori Z.S., Török T., Mátyus P. (2009) $\alpha (2)$ -Adrenoreceptor subtypes-mediated physiological, pharmacological actions. *Neurochem Int.* 55: 447-53
- Han C., Abel P.W., Minneman K.P. (1987) $\alpha 1$ -adrenoceptor subtypes linked to different mechanisms for increasing intracellular Ca^{2+} in smooth muscle. *Nature* 329: 333–335
- Hein L., Altman J.D., Kobilka B.K. (1999) Two functionally distinct $\alpha 2$ -adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission. *Nature* 402: 181– 184
- Hieble J.P., Bylund D.B., Clarke D.E., Eikenburg D.C., Langer S.Z., Lefkowitz R.J., Minneman K.P., Ruffolo R.R. Jr (1995) International Union of Pharmacology. X. Recommendation for nomenclature of $\alpha 1$ -adrenoceptors: consensus update. *Pharmacol Rev* 47: 267-70
- Hildebrand K.R., Lin G., Murtaugh M.P., Brown D.R. (1993) Molecular characterization of $\alpha 2$ -adrenergic receptors regulating intestinal electrolyte transport. *Mol. Pharmacol.* 43: 23–29

- Hirono M., Matsunaga W., Chimura T., Obata K. (2008) Developmental enhancement of alpha2-adrenoceptor-mediated suppression of inhibitory synaptic transmission onto mouse cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience* 156 (1): 143–154
- Honner V., Docherty J.R. (1999) Investigation of the subtypes of alpha1-adrenoceptor mediating contractions of rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 128 (6): 1323–1331
- Hosoda C., Koshimizu T.A., Tanoue A., Nasa Y., Oikawa R., Tomabechi T., Fukuda S., Shinoura H., Oshikawa S., Takeo S., Kitamura T., Cotecchia S., Tsujimoto G. (2005) Two alpha1-adrenergic receptor subtypes regulating the vasopressor response have differential roles in blood pressure regulation. *Mol Pharmacol* 67: 912–922
- Hosoda C., Tanoue A., Shibano M., Tanaka Y., Hiroyama M., Koshimizu T.A., Cotecchia S., Kitamura T., Tsujimoto G., Koike K. (2005) Correlation between vasoconstrictor roles and mRNA expression of alpha1-adrenoceptor subtypes in blood vessels of genetically engineered mice. *Br J Pharmacol* 146: 456–466
- Hunter J.C., Fontana D.J., Hedley L.R., Jasper J.R., Lewis R., Link R.E., Secchi R., Sutton J., Eglen R.M. (1997) Assessment of the role of alpha2-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 122: 1339–1344
- Hussain M., Marshall I. (1997) Characterization of alpha1-adrenoceptor subtypes mediating contractions to phenylephrine in rat thoracic aorta, mesenteric artery and pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 122: 849–858
- Hwa J., Perez D.M. (1996) The unique nature of the serine interactions for alpha 1-adrenergic receptor agonist binding and activation. *J Biol Chem* 271: 6322
- Chalothorn D, McCune DF, Edelmann SE, Tobita K, Keller BB, Lasley RD, Perez DM, Tanoue A, Tsujimoto G, Post GR, Piascik MT (2003) Differential cardiovascular regulatory activities of the alpha1B- and alpha1D-adrenoceptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 305:1045–1053
- Chen Q., Takahashi S., Zhong S., Hosoda C., Zheng H.Y., Ogushi T., Fujimura T., Ohta N., Tanoue A., Tsujimoto G., Kitamura T. (2005) Function of the lower urinary tract in mice lacking alpha1d-adrenoceptor. *J Urol* 174: 370–374
- Chen W., Song B., Marvizon J.C. (2008) Inhibition of opioid release in the rat spinal cord by alpha2C adrenergic receptors. *Neuropharmacology* 54: 944–953
- Chen X.L., Rembold C.M. (1995) Phenylephrine contracts rat tail artery by one electromechanical and three pharmacomechanical mechanisms. *Am J Physiol* 268: H74–H81
- Cherezov V., Rosenbaum D.M., Hanson M.A., Rasmussen S.G., Thian F.S., Kobilka T.S., Choi H.J., Kuhn P., Weis W.I., Kobilka B.K., Stevens R.C. (2007) High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 318: 1258–1265
- Cho S.C., Kim J.W., Kim B.N., Hwang J.W., Park M., Kim S.A., Cho D.Y., Yoo H.J., Chung U.S., Son J.W., Park T.W. (2008a) Possible association of the alpha-2A adrenergic receptor

gene with response time receptor gene with response time disorders. *Am. J. Med. Genet. B: Neuropsychiatr. Genet.* 5 (147B (6)): 957–963

Cho S.C., Kim J.W., Kim B.N., Hwang J.W., Shin M.S., Park M., Kim S.A., Cho D.Y., Yoo H.J., Chung U.S., Son J.W., Park T.W. (2008b) Association between the alpha-2C-adrenergic receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder in a Korean sample. *Neurosci. Lett.* 446 (2–3): 108–111

Chotani M.A., Flavahan S., Mitra S., Daunt D., Flavahan N.A. (2000) Silent alpha(2C)-adrenergic receptors enable cold-induced vasoconstriction in cutaneous arteries. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 278: H1075–H1083

Insel P.A. (1989) Structure and function of alpha-adrenergic receptors. *Am J Med* 87: 12S-18S

Jones S.B., Halenda S.P., Bylund D.B. (1991) Alpha 2-adrenergic receptor stimulation of phospholipase A2 and of adenylate cyclase in transfected Chinese hamster ovary cells is mediated by different mechanisms. *Mol Pharmacol* 39: 239–245

Kable J.W., Murrin L.C., Bylund D.B. (2000) In vivo gene modification elucidates subtype-specific functions of alpha(2)-adrenergic receptors. *J. Pharmacol Exp Ther* 293: 1–7

Kjelsberg M.A., Cotecchia S., Ostrowski J., Caron M.G., Lefkowitz R.J. (1992) Constitutive activation of the alpha 1B-adrenergic receptor by all amino acid substitutions at a single site. Evidence for a region which constrains receptor activation. *J Biol Chem* 267: 1430

Kojima Y., Sasaki S., Shinoura H., Hayashi Y., Tsujimoto G., Kohri K. (2006) Quantification of alpha1-adrenoceptor subtypes by real-time RT-PCR and correlation with age and prostate volume in benign prostatic hyperplasia patients. *Prostate* 66: 761–767

Krulik R., Fišar Z. (1992) Adrenergní a serotonergní receptory při depresi a během její terapie. *ČS Psychiatrie* 88: 229-236

Kumar V.M., Vetrivelan R., Mallick H.N. (2007) Noradrenergic afferents and receptors in the medial preoptic area: neuroanatomical and neurochemical links between the regulation of sleep and body temperature. *Neurochem Int* 50: 783–790

Lakhlani P.P., MacMillan L.B., Guo T.Z., McCool B.A., Lovinger D.M., Maze M., Limbird L.E., (1997) Substitution of a mutant alpha2a-adrenergic receptor via „hit and run“ gene targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic, and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 9950-5

Langer S.Z. (1974) Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem Pharmacol* 23(13): 1793-800

Link R.E., Desai K., Hein L., Stevens M.E., Chruscinski A., Bernstein D., Barsh G.S., Kobilka B.K. (1996) Cardiovascular regulation in mice lacking alpha2-adrenergic receptor subtypes b and c. *Science* 273: 803–805

- Liu L., Coupar I.M. (1997) Role of α_2 -adrenoceptors in the regulation of intestinal water transport. *Br J Pharmacol* 120: 892–898
- Lomasney J.W., Cotecchia S., Lorenz W., Leung W.-Y., Schwinn D.A., Yang-Feng T.L., Brownstein M., Lefkowitz R.J., Caron M. (1991) Molecular cloning and expression of the cDNA for the α_1A -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 266: 6365–6369
- Lorenz W., Lomasney J.W., Collins S., Regan J.W., Caron M.G., Lefkowitz R.J. (1990) Expression of three α_2 -adrenergic receptor subtypes in rat tissues: implications for α_2 -receptor classification. *Mol Pharmacol*, 38: 599-603
- MacMillan L.B., Hein L., Smith M.S., Piascik M.T., Limbird L.E. (1996) Central hypotensive effects of the α_2a -adrenergic receptor subtype. *Science* 273: 801–803
- Marshall I., Burt R.P., Chapple C.R. (1995) Noradrenaline contractions of human prostate mediated by α_1A - (α_1c -) adrenoceptor subtype. *Br J Pharmacol* 115: 781–786
- Marucci G., Angeli P., Buccioni M., Gulini U., Melchiorre C., Sagratini G., Testa R., Giardina D. (2005) (+)-Cyclazosin, a selective α_1B -adrenoceptor antagonist: functional evaluation in rat and rabbit tissues. *Eur J Pharmacol* 522: 100–107
- McCune D., Gaivin R., Rorabaugh B., Perez D. (2004) Bulk is a determinant of oxymetazoline affinity for the α_1A -adrenergic receptor. *Receptors Channels* 10 (3–4): 109–116
- McCune D.F., Edelmann S.E., Olges J.R., Post G.R., Waldrop B.A., Waugh D.J., Perez D.M., Piascik M.T. (2000) Regulation of the cellular localization and signaling properties of the α_1B - and α_1D -adrenoreceptors by agonists and inverse antagonists. *Mol Pharmacol* 57: 659–666
- Meana J.J., Callado L.F., Pazos A., Grijalba B., Garcia-Sevilla J.A. (1996) The subtype-selective α_2 -adrenoceptor antagonists BRL 44408 and ARC 239 also recognize 5-HT_{1A} receptors in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 312: 385–388
- Michel M.C., Kerker J., Branchek T.A., Forray C. (1993) Selective irreversible binding of chloroethylclonidine at α_1 - and α_2 -adrenoceptor subtypes. *Mol Pharmacol* 44: 1165–1170
- Michel M.C., Okutsu H., Noguchi Y., Suzuki M., Ohtake A., Yuyama H., Yanai-Inamura H., Ukai M., Watanabe M., Someya A., Sasamata M. (2006) In vivo studies on the effects of α_1 -adrenoreceptor antagonists on pupil diameter and urethral tone in rabbits. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 372: 346-53
- Mills K., Hausman N., Chess-Williams R. (2008) Characterization of the α_1 -adrenoceptor subtype mediating contractions of the pig internal anal sphincter. *Br J Pharmacol* 155: 110–117
- Minneman K.P. (1988) α_1 -adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates and sources of cell Ca²⁺. *Pharmacol Rev* 40: 87–119
- Moriyama N., Nasu K., Takeuchi T., Akiyama K., Murata S., Mishimatsu H., Yano J.,

- Tsujimoto G., Kawabe K. (1997) Quantification and distribution of alpha1-adrenoceptor subtype mRNAs in human vas deferens: comparison with those of epididymal and pelvic portions. *Br J Pharmacol* 122: 1009–1014
- Morrow A.L., Creese I. (1986) Characterization of alpha1-adrenergic receptor subtypes in rat brain: a re-evaluation of [3H]WB4101 and [3H]prazosin binding. *Mol Pharmacol* 29: 321–330
- Mullner K., Gyires K., Furst S. (2001) Involvement of the opioid system in the central antisecretory action of alpha-2 adrenoceptor agonists in rat. *J Physiol Paris* 95: 209–214
- Mulryan K., Gitterman D.P., Lewis C.J., Vial C., Leckie B.J., Cobb A.L., Brown J.E., Conley E.C., Buell G., Pritchard C.A., Evans R.J. (2000) Reduced vas deferens contraction and male infertility in mice lacking P2X1 receptors. *Nature* 403: 86–89
- Murata S, Taniguchi T, Takahashi M, Okada K, Akiyama K, Muramatsu I (2000) Tissue selectivity of KMD-3213, an alpha(1)-adrenoreceptor antagonist, in human prostate and vasculature. *J Urol* 164: 578–583
- Nazarian A., Christianson C.A., Hua X.Y., Yaksh T.L. (2008) Dexmedetomidine and ST-91 analgesia in the formalin model is mediated by alpha2A-adrenoceptors: a mechanism of action distinct from morphine. *Br J Pharmacol* 155: 1117–1126
- Noble A.J., Chess-Williams R., Couldwell C., Furukawa K., Uchiyama T., Korstanje C., Chapple C.R. (1997) The effects of tamsulosin, a high affinity antagonist at functional alpha1A- and alpha1D-adrenoceptor subtypes. *Br J Pharmacol* 120: 231–238
- Noguera M.A., Ivorra M.D., O’Ocon P. (1996) Functional evidence of inverse agonism in vascular smooth muscle. *Br J Pharmacol* 119: 158–64
- Odagaki Y., Toyoshima R. (2008) Pharmacological characterization of alpha2Dadrenergic receptor-mediated [35S]GTPgammaS binding in rat cerebral cortical membranes. *Pharmacol Res* 57 (6): 435–444
- Orito K., Kishi M., Imaizumi T., Nakazawa T., Hashimoto A., Mori T., Kambe T. (2001) alpha2-adrenoceptor antagonist properties of OPC-28326, a novel selective peripheral vasodilator. *Br J Pharmacol* 134 (4): 763–770
- Perez D.M., Piascik M.T., Graham R.M. (1991) Solution-phase library screening for the identification of rare clones: isolation of an alpha1D-adrenergic receptor cDNA. *Mol Pharmacol* 40: 876– 883
- Philipp M., Brede M., Hein L. (2002) Physiological significance of alpha(2)-adrenergic receptor subtype diversity: one receptor is not enough. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R287–295
- Piascik M.T., Guarino R.D., Smith M.S., Soltis E.E., Saussy D.L., Perez D.M. (1995) The specific contribution of the novel alpha- 1D adrenoceptor to the contraction of vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 1583–1589

- Pozgajova M., Sachs U.J., Hein L., Nieswandt B. (2006) Reduced thrombus stability in mice lacking the alpha2A-adrenergic receptor. *Blood* 108: 510–514
- Puolivali J., Bjorklund M., Holmberg M., Ihalainen J.A., Scheinin M., Tanila H. (2002) Alpha 2C-adrenoceptor mediated regulation of cortical EEG arousal. *Neuropharmacology* 43: 1305–1312
- Ross S.A., Rorabaugh B.R., Chalothorn D., Yun J., Gonzalez-Cabrera P.J., McCune D.F., Piascik M.T., Perez D.M. (2003) The alpha(1B)- adrenergic receptor decreases the inotropic response in the mouse Langendorff heart model. *Cardiovasc Res* 60: 598–607
- Sallinen J., Haapalinna A., Viitamaa T., Kobilka B.K., Scheinin M. (1998) Adrenergic alpha2C-receptors modulate the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and aggression in mice. *J Neurosci* 18: 3035–3042
- Sanbe A., Tanaka Y., Fujiwara Y., Tsumura H., Yamauchi J., Cotecchia S., Koike K., Tsujimoto G., Tanoue A. (2007) Alpha1- adrenoceptors are required for normal male sexual function. *Br J Pharmacol* 152: 332–340
- Scheer A., Fanelli F., Costa T., De Benedetti P.G., Cotecchia S. (1996) Constitutively active mutants of the alpha 1B-adrenergic receptor: role of highly conserved polar amino acids in receptor activation. *EMBO J* 15: 3566
- Scheibner J., Trendelenburg A.U., Hein L., Starke K. (2001a) Alpha2-adrenoceptors modulating neuronal serotonin release: a study in alpha2-adrenoceptor subtype- deficient mice. *Br J Pharmacol* 132: 925–933
- Scheinin M., Sallinen J., Haapalinna A. (2001) Evaluation of the alpha2C-adrenoceptor as a neuropsychiatric drug target studies in transgenic mouse models. *Life Sci* 68: 2277–2285
- Schwinn D.A., Lomasney J.W., Lorenz W., Szklut P.J., Fremeau R.T., Yang-Feng T.L., Caron M.G., Lefkowitz R.J., Cotecchia S. (1990) Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel alpha1-adrenergic receptor subtype. *J Biol Chem* 265: 8183–8189
- Sleight A.J., Koek W., Bigg D.C. (1993) Binding of antipsychotic drugs at alpha1A- and alpha1B-adrenoceptors: risperidone is selective for the alpha 1B-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 238: 407–410
- Smith K.M., MacMillan J.B., McGrath J.C. (1997) Investigation of alpha1-adrenoceptor subtypes mediating vasoconstriction in rabbit cutaneous resistance arteries. *Br J Pharmacol* 122: 825–832
- Starke K. (1977) Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 77: 1–124
- Starke K., Langer S.Z. (1979) A note on the terminology for presynaptic receptors. In: Langer S.Z., Starke K., Dubocovich M.L. (eds) *Presynaptic receptors*. Pergamon Press, Oxford, pp 1–3
- Szot P., Lester M., Laughlin M.L., Palmiter R.D., Liles L.C., Weinshenker D. (2004) The

anticonvulsant and proconvulsant effects of alpha2-adrenoreceptor agonists are mediated by distinct populations of alpha2A-adrenoreceptors. Neuroscience 126: 795–803

Teng C.-M., Guh J.-H., Ko F.-N. (1994) Functional identification of alpha1-adrenoceptor subtypes in human prostate: comparison with those in rat vas deferens and spleen. Eur J Pharmacol 265: 61–66

Trendelenburg A.U., Philipp M., Meyer A., Klebroff W., Hein L., Starke K. (2003) All three alpha2-adrenoceptor types serve as autoreceptors in postganglionic sympathetic neurons. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 368: 504– 512

Uberti M.A., Hall R.A., Minneman K.P. (2003) Subtype-specific dimerization of alpha1-adrenoceptors: effects on receptor expression and pharmacological properties. Mol Pharmacol 64: 1379–1390

Ulahannan T.J., Karpe F., Humphreys S.M., Matthews D.R., Frayn K.N. (2002) Effects of acute administration of doxazosin on fasting and postprandial haemodynamics and lipid metabolism in healthy subjects. Horm Metab Res 34: 499–503

Villalobos-Molina R., Ibarra M. (1996) Alpha1-adrenoceptors mediating contraction in arteries of normotensive and spontaneously hypertensive rats are of the alpha1D or alpha 1A subtypes. Eur J Pharmacol 298: 257–263

Villalobos-Molina R., Lopez-Guerrero J.J., Ibarra M. (1997) Alpha1D- and alpha1A-adrenoceptors mediate contraction in rat renal artery. Eur J Pharmacol 322: 225–227

Vinci M.C., Bellik L., Filippi S., Ledda F., Parenti A. (2007) Trophic effects induced by alpha1D-adrenoceptors on endothelial cells are potentiated by hypoxia. Am J Physiol Heart Circ Physiol 293: H2140–H2147

Wang C.-D., Buck M.A.Q., Fraser C.M. (1991) Site-directed mutagenesis of alpha 2A-adrenergic receptors: identification of amino acids involved in ligand binding and receptor activation by agonists. Mol Pharmacol 40: 168

Williams T.J., Blue D.R., Daniels D.V., Davis B., Elworthy T., Gever J.R., Kava M.S., Morgans D., Padilla F., Tassa S., Vimont R.L., Chapple C.R., Chess-Williams R., Eglen R.M., Clarke D.E., Ford A.P. (1999) In vitro alpha1-adrenoceptor pharmacology of Ro 70- 0004 and RS-100329, novel alpha1A-adrenoceptor selective antagonists. Br J Pharmacol 127: 252–258

Winter J.C., Rabin R.A. (1992) Yohimbine as a serotonergic agent: evidence from receptor binding and drug discrimination. J. Pharmacol Exp Ther 263: 682– 689

Woodcock E.A. (2007) Roles of alpha1A- and alpha1B-adrenoceptors in heart: insights from studies of genetically modified mice. Clin Exp Pharmacol Physiol 34: 884–888

Yang H.-T., Endoh M. (1997) Pharmacological evidence for alpha1D-adrenoceptors in the rabbit ventricular myocardium: analysis with BMY 7378. Br J Pharmacol 122: 1541–1550

Yu G.-S., Han C. (1994) Role of alpha1A- and alpha1B-adrenoceptors in phenylephrine induced positive inotropic response in isolated rat left atrium. J Cardiovasc Pharmacol 24:

Zadori Z.S., Shujaa N., Fulop K., Dunkel P., Gyires K. (2007) *Pre- and postsynaptic mechanisms in the clonidine- and oxymetazoline-induced inhibition of gastric motility in the rat. Neurochem. Int. 51: 297–305*

Ziani K., Gisbert R., Noguera M.A., Ivorra M.D., D'Ocon P. (2002) *Modulatory role of a constitutively active population of alpha(1D)-adrenoceptors in conductance arteries. Am J Physiol Heart Circ Physiol 282: H475–H481*

Zuscik M.J., Chalothorn D., Hellard D., Deighan C., McGee A., Daly C.J., Waugh D.J., Ross S.A., Gaivin R.J., Morehead A.J., Thomas J.D., Plow E.F., McGrath J.C., Piascik M.T., Perez D.M. (2001) *Hypotension, autonomic failure, and cardiac hypertrophy in transgenic mice overexpressing the alpha 1B-adrenergic receptor. J Biol Chem 276: 13738–13743*

Internetové zdroje:

http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0150.htm (14. 5. 2014)

<http://psych.lf1.cuni.cz/bp/3.3.htm> (14.5.2014)

<http://sakmarlab.org/Tools/HTS/Figure3.html> (14.5.2014)

IUPHAR database (IUPHAR-DB) (14. 05. 2014)