

VAZBA XENOBIOTIK NA ADRENERGNI A CHOLINERGNÍ RECEPTORY – PRINCIPY RECEPTOROVÝCH VAZEB VÝZNAMNÝCH V UROLOGII

MUDr. Zbyněk Veselský, Ph.D.¹, MUDr. Petr Macek², prof. MUDr. Peter Višňovský, CSc.³, doc. Ing. Vladimír Matĥa, DrSc.⁴, MUDr. Boĥena Jurášková, Ph.D.⁵, MUDr. Miroslav Förstl⁶

¹Specializovaná lékařská poradna, Hradec Králové

²Urologická klinika FN a LF UK, Hradec Králové

³Katedra farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty UK, Hradec Králové

⁴Vědecké a výzkumné oddělení IVAX Pharmaceuticals, Miami, USA

⁵Metabolická a gerontologická klinika FN a LF UK, Hradec Králové

⁶Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK, Hradec Králové

Vliv farmaka v organizmu je závislý na mnohých, farmakologií definovaných, parametrech, způsobu aplikace, lékové formě, koncentraci, farmakodynamice, farmakokinetice apod. S postupem doby se musíme ve svých pozorováních zaměřit na buněčnou a molekulární strukturu, neboť „pouhá“ reakce na receptoru dnes znamená složitý mechanismus změn subcelulární funkční jednotky. V terapii symptomů dolních močových cest z důvodů subvezikální (také: infravezikální) obstrukce dominují inhibitory alfa-adrenergních receptorů sympatiku. Michel a spol. definoval strukturu alfa-1 adrenoceptoru jako jednotky složené z části s vysokou afinitou k prazosinu (High – subtyp 1A, 1B a 1D) a s nízkou, nebo nulovou (Low – 1L). Není zřejmé, zda 1L označuje skupinu dosud nedefinovaných subtypů alfa-1L, či zda se jedná o změnu konfigurace původně citlivého vazebného místa.

V klinické praxi s jistotou nevíme, zda selektivita inhibitoru alfa-1 adrenoceptorů je dostatečným důvodem pro preferenci léčiv, u kterých byla tato strukturalizace použita (tamsulosin hydrochlorid). Vlastní teorii o klinické specifitě adrenergního receptoru je nutno pojmut komplexně a porozumět i molekulárním změnám adrenoceptoru po navázání jeho inhibitoru. Klíčová slova: adrenergní receptor, inhibitor, receptorová vazba.

XENOBIOTICS BINDING TO ADRENERGIC AND CHOLINERGIC RECEPTORS – PRINCIPLES OF RECEPTOR BINDING IMPORTANT IN UROLOGY

The effect of drug in organism depends on many, pharmacologically defined, parameters – the mode of application, form of drug, its concentration, pharmacodynamics, pharmacokinetics etc. With the progress of time we have to focus our observations to cellular and molecular structure, because “mere” receptor reaction today means complex mechanism of changes of subcellular functional unit. Sympathetic alpha-adrenergic receptor inhibitors dominate in the of lower urinary tract symptoms based on subvesical (also: infravesical) obstruction. Michel et al. defined an alpha-adrenergic receptor structure as a unit compounded of the part with high affinity to prazosin (High – subtype 1A, 1B, 1D) and low, or zero, affinity (Low – 1L). It is not clear, whether 1L represents a group of so far undefined alpha-1L subtypes or it is a change of configuration of originally sensitive binding site.

Until now, we don't know for sure in clinical practice, if the selectivity of alpha-1 adrenoceptor inhibitors is the sufficient reason to prefer a drug, where a structural formula has been used (tamsulosin hydrochloride). Theory of alpha-adrenergic receptors clinical specificity itself, has to taken in complex and it is necessary to understand adrenoceptor changes following binding of its inhibitor.

Key words: adrenergic receptor, inhibitor, receptor binding.

Úvod

Symptomy dolních močových cest postihují významnou část populace. Některým ze symptomů dolních močových cest trpí 40% 40letých mužů, nad 60 let je spíše obvyklá jejich kombinace. U žen jde o čísla mírně menší, která však s věkem narůstají a vedle obstrukční uropatie dominuje nestabilita vезiky, případně uretry. Cílem farmakologické

léčby je „pouze“ ulevit od obtíží, neboť kauzální terapii dosud neznáme. V léčivech, která se užívají v této indikaci (dle MKN nejčastěji N40, N41.1–9, N32.1–9, N38.1–9) se užívají inhibitory alfa-adrenoceptoru (adrenergního receptoru) od 51–83% (9).

Pro pochopení efektu použitých léčiv je nutno znát způsob, kterým tak činí. Hovoříme o mechanismu účinku a máme na mysli proce-

sy, které probíhají na celulární a subcelulární úrovni a vysvětlují změny, které léčivo navodí. S rozvojem farmakologie se rozšiřují možnosti, jak mechanismus účinku zkoumat. Z pohledu klinického lékaře je nejsnadnější srovnání s léčivem, které ve stejné indikaci bylo užíváno doposud a změny proti jeho účinkům zkoumat jako „jiné“, „nové“, tedy s velkou pravděpodobností specifické pro léčivo nové generace. To-

těž platí o vedlejších a nežádoucích účincích. Poměrně významným způsobem je i zastoupení léčiva v jednotlivých kompartmentech organismu a jeho koncentrace v tkáních. Zde jsou však možnosti omezené především na nepřímé průkazy (navázání léčiva na radionuklid), nebo pokus na zvířeti.

I když celá řada látek má schopnost působit přímo (negenomový účinek), pro zprostředkování zásadních odpovědí je nutná reakce se specifickým vazebným místem (obvykle proteinem) – receptorem. Receptory lze dělit podle jejich lokalizace (fosfolipidová buněčná membrána, buněčné jádro), způsobů aktivace (přímá vazba, vazba přes „posla“), mediátoru, který efekt zprostředkovává (noradrenalin, acetylcholin atd.) či formou, kterou léčivo musí působit (bez změny, nebo po konverzi na formu s vyšší vazebnou kapacitou – příkladem je konverze testosteronu 5-alfa reduktázou 2. typu na dihydrotestosteron (DHT). Oba dva produkty jsou schopny reagovat s androgenním receptorem, DHT cca 10krát více – látky kompetují). Rozdílný je také čas, kdy dochází k odpoutání mediátoru z vazebného místa a tedy možnost opakování polarizace a depolarizace (10).

Nejpřehlednější dělení receptorů je do skupin podle stavby receptorového proteinu a transdukce signálu – iontové kanály řízené ligandy, receptory s vazbou na G-protein, receptory s tyrokinázovou aktivitou a receptory regulující transkripci DNA.

Po navázání látky změní receptor svou konfiguraci a touto změnou vyvolá změnu v buňce.

Nikotinové receptory pro acetylcholin patří do skupiny iontových kanálů řízených ligandem. Receptory pro noradrenalin (adrenoceptory) a muskarinové receptory s acetylcholinem pak do skupiny receptorů spřažených s G-proteinem (3).

Protože dobrá funkce dolních močových cest předpokládá souhrn reakcí na cholinergních a adrenergických receptorech, pojednáme o mechanismu těchto dvou skupin.

Iontové kanály řízené ligandem

Receptor je umístěn ve fosfolipidové buněčné membráně. Je složen ze čtyř podjednotek, z nichž podjednotka alfa se vyskytuje dvakrát (tedy ve skutečnosti je podjednotek pět). Mají tvar šroubovice (typu alfa) a fosfolipidovou membránou prochází 4 krát. Podjednotky jsou spojeny tak, že mezi nimi vzniká prostor – transmembránový kanál. Molekulová hmotnost se pohybuje od 40–60 kDa.

Podjednotky alfa obsahují extracelulární vazebné místo pro ligand (v tomto případě acetylcholin). Po jeho navázání na obě dvě vazebná místa dojde k otevření iontového

kanálu (nespecifický iontový kanál – dovoluje vstup kaliového i natriového iontu) a dochází ke směně Na^+ z extracelulárního prostoru za intracelulární K^+ . Směna je nerovnoměrná a natria vstupuje do buňky významně více. Protože intracelulární strana fosfolipidové membrány je negativně nabitá, dochází postupně vstupem kladně nabitého iontu natria k depolarizaci membrány. Tím se vytvoří akční potenciál. Zásadní je tedy influx Na^+ (1, 12).

Navázání acetylcholinu na vazebné místo podjednotky alfa je velmi krátké (důležité při terapii!) a acetylcholin se rychle odpoutává a vstupuje do reakce s acetylcholinesterázou, která jej štěpí. Tento proces trvá řádově milisekundy, a proto je reakce na přičně pruhovalém svalu rychlá (5).

Receptory spojené (spřažené) s G-proteinem

Patří sem receptory reagující s katecholaminy (adrenalin, noradrenalin, dopamin), histaminové receptory, muskarinové acetylcholinové receptory, receptory pro prostaglandiny a opioidní receptory.

Struktura receptorového proteinu je poměrně složitá – jde o šroubovici (řetězec typu alfa), který sedmkrát prochází fosfolipidovou membránou buňky a to tak, že vytváří kruh, v jehož středu je vazebné místo pro transmitter. Transdukce (přenos) signálů je uskutečněna pomocí G-proteinu (jde o protein, který váže guanylnukleotid). G-protein je uložen intracelulárně a je schopen pohybu do strany (v klidu se dotýká vnitřní strany fosfolipidové membrány).

G-protein – je složen ze tří podjednotek, které se liší molekulovou hmotností, schopností vázat guanosindifosfát (GDP) a guanosintrifosfátovou aktivitou. Subjednotka alfa (5 kDa) váže v klidu guanosindifosfát, který se z ní uvolní po navázání receptorů na vazebné místo v membráně a po spojení G-proteinu s tímto místem. Po uvolnění naváže místo guanosindifosfátu (GDP) guanosintrifosfát (GTP). Také dojde k uvolnění alfa podjednotky od podjednotek beta a gama a k jejímu spojení s membránovou efektorovou bílkovinou. Ta změní svou konfiguraci. V některých případech s efektorovým proteinem reaguje podjednotka beta a gama. Díky tomu, že alfa-podjednotka má guanosintrifosfátovou aktivitu (GTP-aktivita), je schopna oddělit od guanosintrifosfátu jednu skupinu za vzniku guanosindifosfátu a celá reakce se dostává do výchozího stavu (7, 6).

Specifita reakce je dána tím, že existují různá vazebná místa, různé G-proteiny i různé efektorové proteiny. Ty jsou pak specifické k danému mediátoru.

Příkladem efektorového proteinu může být adenylátcykláza (katalyzuje vznik cyklického

adenosinmonofosfátu – cAMP). Její schopnost pohybovat se fosfolipidovou membránou difuzí z ní dělá významného transmembránového posla (messengera). cAMP oddělí od protein-kinázy A regulační podjednotku a tím uvolní katalytickou podjednotku – dojde k přenosu fosfátové skupiny na treoninové nebo serinové skupiny některých proteinů a tím ke změně jejich aktivity. Tyto pochody jsou pro organismus esenciální a přes relativní komplikovanost dovolují poměrně jednoduchým pochodem ovlivňovat život zachraňující metabolické děje – lipolýzu, glykogenové štěpení, zvýšení dostupnosti energie vazbou adrenalinu na beta-adrenergní receptory, v srdečním svalu se fosforylují proteiny membránových kalciových kanálů, a tím se zvyšuje jejich dostupnost a účinnost.

cAMP je deaktivovaná intracelulárně fosfodiesterázou, přenesené fosfátové skupiny se pak odštěpí díky fosfatázám (2).

Dalším významným efektorovým proteinem je membránová fosfolipáza C. Enzym je složen z fosfatidylinositolových fosfolipidů, které jsou fyziologickou součástí fosfolipidové matrix buněčné stěny. Fosfolipáza uvolňuje z fosfatidylinositolu inositoltrifosfát (ITP, IT3). ITP je pak transmembránovým poslem, jež stimuluje endoplazmatické retikulum k výdeji kalciových iontů do cytosolu. Tím dochází ke zvýšení sekrece žláz a zvyšuje se tónus hladké svaloviny (alfa-adrenoceptor). Dalším krokem je aktivace protein-kinázy C diacylglycerolem (zbytek po odštěpení ITP) a ta fosforylací funkčních proteinů ovlivňuje činnost buněk.

Mezi další významné efektorové proteiny ovlivněné G-proteinem patří iontové kanály, guanylátcykláza a fosfolipáza A2.

Skupina G-proteinů je heterogenní nejen svou konfigurací, ale také účinkem – mohou reakce stimulovat (Gs-protein), nebo inhibovat (Gi-protein). To dovoluje na úrovni G-proteinu zpracovávat a dále přenášet i protichůdné signály. To vyžaduje větší časovou náročnost a tyto reakce probíhají v řádech sekund (8).

Diskuze

Tento článek není – jak by se mohlo na první pohled zdát – pouze teoretizováním bez praktického dopadu. Snažíme se ukázat, jak složitý je jev, který se obecně nazývá „vazba léčiva s receptorem“. Jestliže dnes hovoříme o tom, že některá léčiva jsou či nejsou k některému receptoru preferenční, dostáváme stále stejnou otázku – „Čím se tedy od sebe liší?“. Liší se nejen dnes již povrchním a hrubým vztahem k subtypům jednotlivých proteinů (u inhibitorů alfa-1 adrenoceptoru subtypy A, B, D), ale s vysokou pravděpodobností i transdukci signálu na receptoru. Tím se dostáváme k často podceňovaným otázkám,

co všechno v praktické medicíně ovlivňuje efektivitu terapie a projevy některých vedlejších účinků. Uvědomme si pestrost účinných látek, se kterými se v průběhu života člověk setká a s většinou reaguje vazbou s receptorem, který je v detailním pohledu k látce „specifický“. Jinak nelze vysvětlit, že skupina alfa-adrenergických inhibitorů má významný vliv na systémový krevní tlak a minimální na mikční symptomy (prazosin), vyrovnaný efekt na systémový krevní tlak a symptomy dolních močových cest – LUTS (doxazosin, terazosin) a významný vliv na LUTS s minimálním ovlivněním krevního tlaku (alfuzosin, tamsulosin). Pokud by inhibitor vyvolal blokádu „adrenergického receptoru“, měla by se projevit podle vlastnosti léčiva kvantitou ovlivnění, nikoliv rozdílnou kvalitou, která je různá u každého jednotlivého inhibitoru.

Zatím nebylo prokázáno, že by (s výjimkou aganglióz) měli jednotliví jedinci rozdílné počty receptorů vegetativního nervového systému. Víme, že se mění jejich funkční množství a od určité hranice stimulace nelze vyloučit, že podobně, jak to vidíme u androgenního receptoru, může dojít k navýšení absolutního počtu, a tím snížení efektivity terapie (komplikace terapie analogy LH-RH) (4).

Na druhé straně (i když postrádáme logiku) víme, že u subvezikální obstrukce dochází k navýšení alfa-1 adrenergických receptorů v hrdle močového měchýře, a to v subtypu alfa 1A,

což stupeň obstrukce ještě zhoršuje (terapeuticky pak u nemocných dochází rychleji k poklesu International Prostate Symptom Score a to i tehdy, zůstává-li Qmax v hodnotách obstrukce či „šedé zóny“) (11).

Závěr

Naše znalosti v oblasti mechanismu účinku léčiv jsou stále detailnější. To nám dovoluje na-

stavovat terapii přímo pro konkrétního pacienta (individualizace terapie). Dnešní běžná praktická urologie může být v poměrně krátké době doménou praktických lékařů tak, jak to vidíme ve Velké Británii a urolog bude konzultantem pro stavy, kdy terapie běžnými léčivy není úspěšná. Aby mohl tímto specialistou být, musí se orientovat i v problematice vlastních receptorových dějů a tyto znalosti uplatnit v praxi.

Literatura

1. Cingolani HE, Chiappe GE, Ennis IL, Morgan PG., Alvarez BV, Casey JR, Dulce RA, Perez NG, Camilion De Hurtado MC. Influence of Na⁺ - Independent Cl⁻-HCO₃⁻ Exchange on the Slow Force Response to Myocardial Stretch. *Circ Res.*, 2003; 23 Suppl.
2. Gregg D, Rauscher FM, Goldsmitd-Clermont PJ. Rac regulates cardiovascular superoxide through diverse molecular interactions: more than a binary GTP switch. *Am J Physiol Cell Physiol.*, 2003; 285 (4): C723–734.
3. Chen CY, Cordeaux Y, Hill SJ, King JR. Modelling of signalling via G-protein coupled receptors: pathway-dependent agonist potency and efficacy. *Bull Nath Biol.*, 2003; 65 (5): 933–958.
4. Kvasnička J jr., Veselský Z, Macek P. Trombembolická rizika u žen léčených hormonální substituční léčbou. *Čes Geriatr Rev.*, 2003; 1 (1): 41–44.
5. Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature*, 2003; 26, 424 (6943): 949–955.
6. Peng L, Mirshahi T, Zhang H, Hirsch JP, Logothetis DE. Critical determinants of the G protein gamma subunits in the Gbeta gamma stimulation of GIRK channel activity. *J Biol Chem.*, 2003; Sep. 15. Suppl.
7. Simons PC, Shi M, Foutz T, Cimino DF, Lewis J, Buranda T, Lim WK, Neubig RR, McIntire WE, Garrison J, Prossnitz E, Sklar LA. Ligand-receptor-g-protein molecular assemblies on beads for mechanistic studies and screening by flow cytometry. *Mol Pharmacol.*, 2003; 64 (5): 1227–1238.
8. Somlyo A P, Somlyo A V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol Rev.*, 2003; 83 (4): 1325–1358.
9. Veselský Z, Macek P, Prošvic P, Višňovský P, Förstl M. Význam subtypů alfa-1A adrenoceptorů v terapii symptomů dolních močových cest (LUTS) a benigní hyperplazie prostaty. *Urolog. pro Praxi*, 2002; 3 (3): 106–109.
10. Veselský Z, Prošvic P, Macek P. Méně častá onemocnění prostaty. *ZDN Lékařské listy*, 2003; 6: 28–29.
11. Veselský Z, Višňovský P, Macek P, Jurašková B, Förstl M. Benigní hyperplazie prostaty a hypertenze. *Urolog. pro Praxi*. 2003; 3: 26–28.
12. Wei J, Jin Y, Wu H, Sha D, Wu JY. Identification and functional analysis of truncated human glutamic Acid decarboxylase 65. *J Biomed Sci.*, 2003; 10 (6): 617–624.