



Investice do rozvoje vzdělávání

# Inovace studia molekulární a buněčné biologie

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*



Investice do rozvoje vzdělávání

# Buněčná biologie 2: KBB/BB2

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*



Investice do rozvoje vzdělávání

# 3. Receptorová teorie

Prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, Ph.D.

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*



Investice do rozvoje vzdělávání

## Cíl přednášky

Seznámit se základními principy a teorií fungování receptorů na molekulární úrovni.

## Klíčová slova

Frakční obsazenost, antagonismus, afinita, spare receptory, desenzitizace, hormonální děje

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# RECEPTOROVÁ TEORIE - HISTORIE

- poprvé ji postuloval John Newport Langley (1878)
- experimentoval s analogy nikotinu a kurare na svalovou kontrakci
- s využitím izolovaných svalových vláken pozoroval účinky pilokarpinu (kontrakce) a atropinu (inhibice)
- učinil závěr, že dvě sloučeniny soutěží o třetí, ale neznámou látku
- pokračovatelem byl Paul Ehrlich (1854-1915)
- prokázal nezbytnost stereoselektivity v signalizaci léčivo-receptor



John N. Langley



Paul Ehrlich

# RECEPTOROVÁ TEORIE SOUČASNOST

- většina receptorů již byla identifikována, izolována, biochemicky charakterizována
  - geny kódující receptory byly klonovány a sekvenovány
  - obdobný stupeň poznání i na úrovni interagujících, regulujících a regulovaných systémů (genů)
  - studium pomocí mutantních proteinů
  - *in silico* přístupy
- 
- RECEPTORY DETERMINUJÍ KVANTITATIVNÍ VZTAH MEZI DÁVKOU LÉČIVA A FARMAKOLOGICKÝM ÚČINKEM
  - RECEPTORY JSOU ZODPOVĚVNÉ ZA SELEKTIVITU ÚČINKU LÉČIVA
  - RECEPTORY ZPROSTŘEDKOVÁVAJÍ ÚČINEK FARMAKOLOGICKÝCH AGONISTŮ A ANTAGONISTŮ

# MATERIÁL KE STUDIU

Rang H.P., Dále M.M., Ritter J.M., Gardner P.: Pharmacology; 4th Edition, Churchill Livingstone, 2001.

Gerhard Krauss

Biochemistry of Signal Transduction and regulation

3rd Completely Revised Edition; Wiley-VCH Verlag 2003, Weinheim

Gomperts B.D., Kramer I.M, Tatham P.E.R.

Signal Transduction

Third Edition, 2003, Elsevier Academic Press, London

Helmreich E.J.M.

The Biochemistry of Cell Signalling

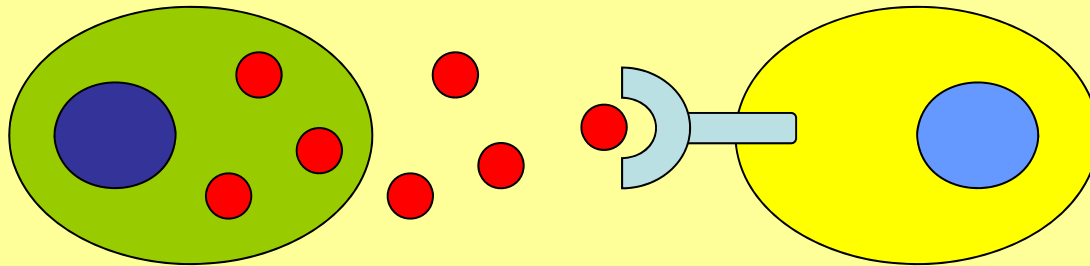
Oxford University Press 2001, New York

[www.iuphar.org](http://www.iuphar.org)

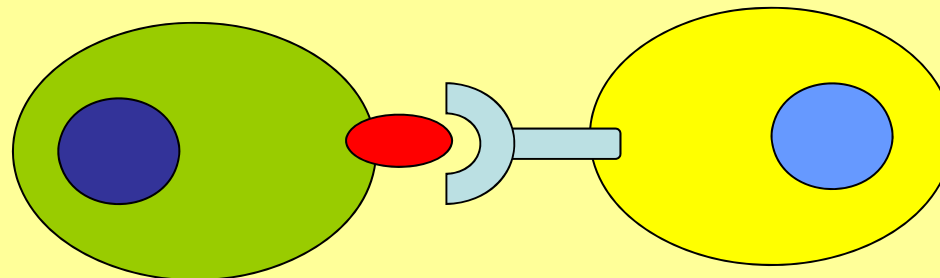
[www.aspet.org](http://www.aspet.org)

# MEZIBUNĚČNÁ SIGNALIZACE

- signalizace sekretovanými molekulami



- signalizace molekulami vázanými na plasmatickou membránu





# HORMONÁLNĚ ŘÍZENÉ DĚJE

## KRITÉRIA

- receptor musí vykazovat **STRUKTURNÍ** a **STERICKOU SPECIFITU** pro hormon a pro strukturně blízká analoga
- receptory jsou **SATUROVATELNÉ** a v **OMEZENÉM MNOŽSTVÍ** (tj. existuje konečný počet vazebných míst)
- vazba hormonu na receptor je **REVERSIBILNÍ**
- vazba hormonu na receptor je **BUNĚČNĚ SPECIFICKÁ** v souladu se specificitou hormonu k cílovému orgánu
- receptor musí vykazovat **VYSOKOU AFINITU** pro hormon ve **FYZIOLOGICKÝCH KONCENTRACÍCH**
- jakmile se hormon naváže na receptor, musí proběhnout zřetelná „brzká chemická událost“ („early chemical event“)

# HORMONÁLNĚ ŘÍZENÉ DĚJE KRITÉRIA

- skutečnost, že daná látka nesplňuje jakoukoliv z uvedených podmínek naznačuje nescifickou vazbu na proteiny nebo fosfolipidy v krvi nebo plasmatické membrány!!!!!!

# ZÁKLADNÍ VLASTNOSTI RECEPTORU „recognition + transduction“

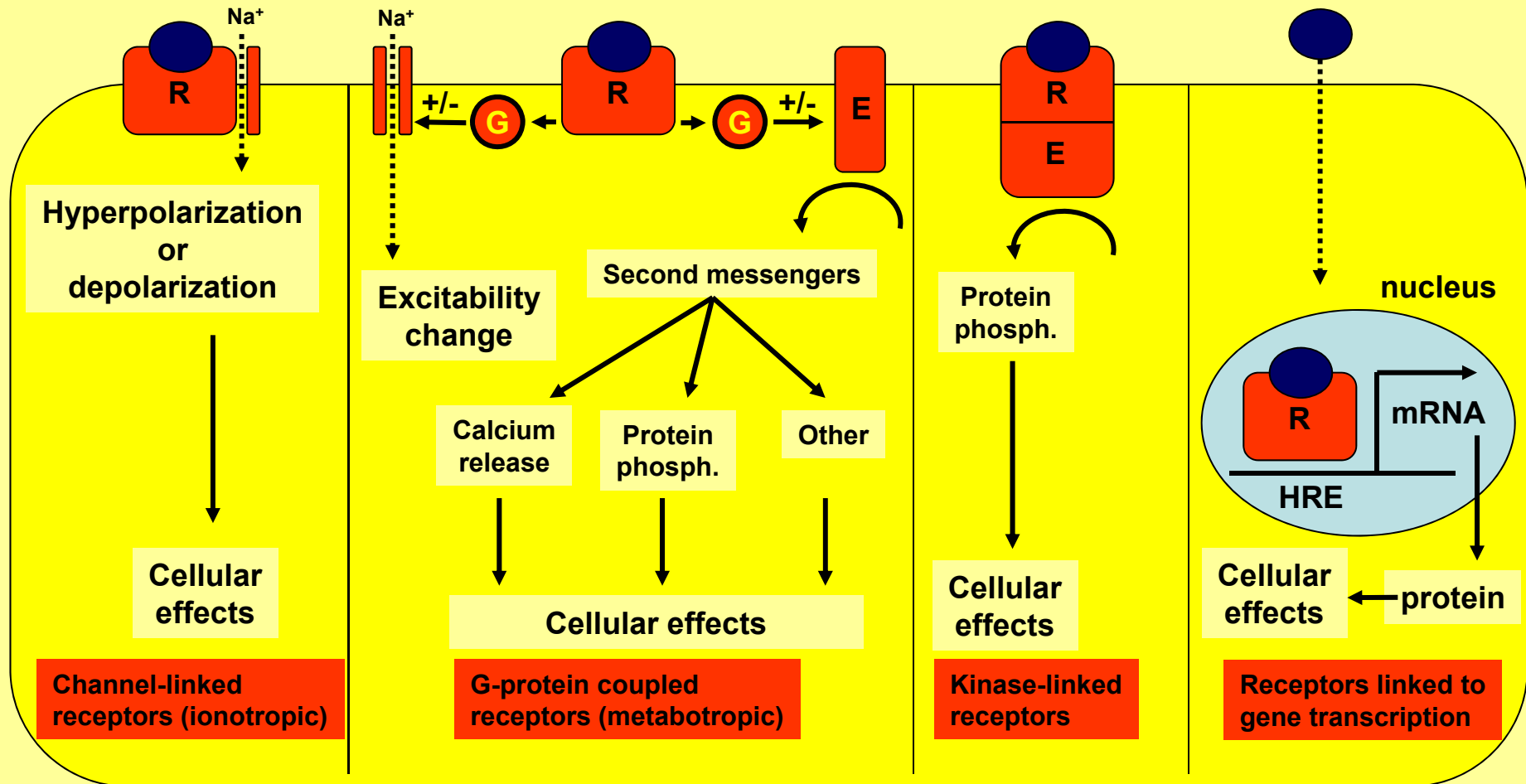
**Recognition:** Receptor existuje v konformačním stavu, který umožňuje rozpoznání a vazbu látky a splňuje tato kritéria:

- Satureovatelnost
- Reversibilita (nekovalentní vazby; H-vazby, van der Waalsovy síly)
- Stereoselektivita (rozpoznání pouze přirozených opt. izomerů (+/-, D/L, S/R).
- Specifita k agonistům (strukturně podobné látky se dobře váží na receptor, zatímco strukturně odlišné se váží špatně)
- Tkáňová specifita (vazba proběhne ve tkáních, které jsou citlivé pro endogenní ligand a ve fyziologicky relevantních koncentracích)

**Transduction:** Vazba agonisty na receptor musí být přeměněna do nějaké funkční odpovědi (biologické nebo fyziologické):

Různé typy receptorů jsou spojeny s příslušnými efektorovými systémy buď přímo nebo prostřednictvím jednoduchých či komplexních systémů pro bezprostřední amplifikaci signálu.

# TYPY RECEPTORŮ



milliseconds

- nicotinic ACh r.
- GABA<sub>A</sub> r.

seconds

- adrenoreceptors
- muscarinic ACh r.

minutes

- insulin r.
- growth factors r.
- cytokine r.

hours

- steroid/thyroid r.
- MR, GR, AR, ER
- GR, TR, VDR, PR

# FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ROVNOVÁHU LÉČIVA NA RECEPTORU

- omezená difúze
- metabolismus
- zachycení proteiny, lipidy nebo krví

Odpověď závisí na:

- druhu efektoru
- potřebě allosterických ko-faktorů
- přímé modifikaci receptoru - např. fosforylace, proteolytické štěpení

# DEFINICE POJMŮ

## AFINITA („*affinity*“)

- ochota s jakou se léčivo váže na daný receptor
- velmi lipofilní látky - jedná se spíše o nespecifický účinek než vysokou afinitu

## AKTIVITA („*intrinsic activity*“)

- relativní maximální účinek látky v dané tkáni ve srovnání s přirozeným endogenním ligandem
- **Full agonist**,  $IA = 1$  (totožné s endogenním ligandem)
- **Antagonist**;  $IA = 0$
- **Partial agonist**,  $IA = 0 \sim 1$  (vyvolá submaximální odpověď i při maximální saturaci receptoru)
- **Inverse agonist**,  $IA < 1$

## ÚČINNOST („*efficacy*“; „*intrinsic efficacy*“)

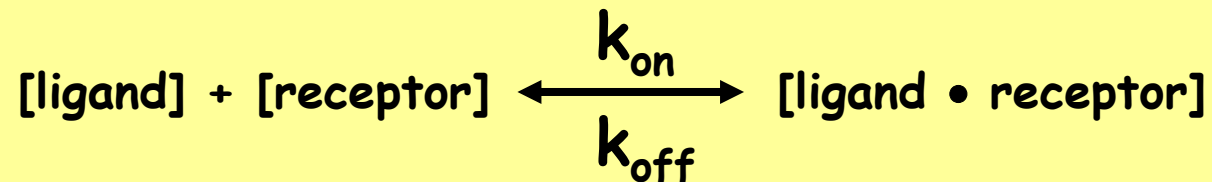
- schopnost látky vázat se na receptor a vyvolat funkční odpověď
- vyjadřuje míru formace komplexu léčivo-receptor
- $EC_{50} = \textit{half maximal effective concentration}$

## POTENCE („*potency*“)

- schopnost látky vyvolat měřitelnou funkční změnu
- comparativní veličina - srovnává koncentraci 2 látek, která vyvolá MAX odpověď

# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR

- vazba ligandu na receptor se řídí zákonem o působení aktivní hmoty
- **primární předpoklad:** ligand se váže na homogenní populaci receptorů



- $k_{\text{on}}$  = počet vazeb (událostí) / čas (rychlost/míra asociace)  
 $[\text{ligand}] \bullet [\text{receptor}] \times k_{\text{on}} = \text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$
- $k_{\text{off}}$  = počet disociací (událostí) / čas (rychlost/míra disociace)  
 $[\text{ligand} \bullet \text{receptor}] \times k_{\text{off}} = \text{min}^{-1}$
- k vazbě dochází když ligand a receptor kolidují ve správné orientaci a se správnou energií
- interakce je **REVERSIBILNÍ**
- rychlost formace  $[\text{L}] + [\text{R}]$  nebo disociace  $[\text{LR}]$  závisí jen na počtu receptorů, koncentraci ligandu a rychlostních konstantách  $k_{\text{on}}$  a  $k_{\text{off}}$

# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR

- v rovnováze je rychlost tvorby komplexu rovna rychlosti disociace:



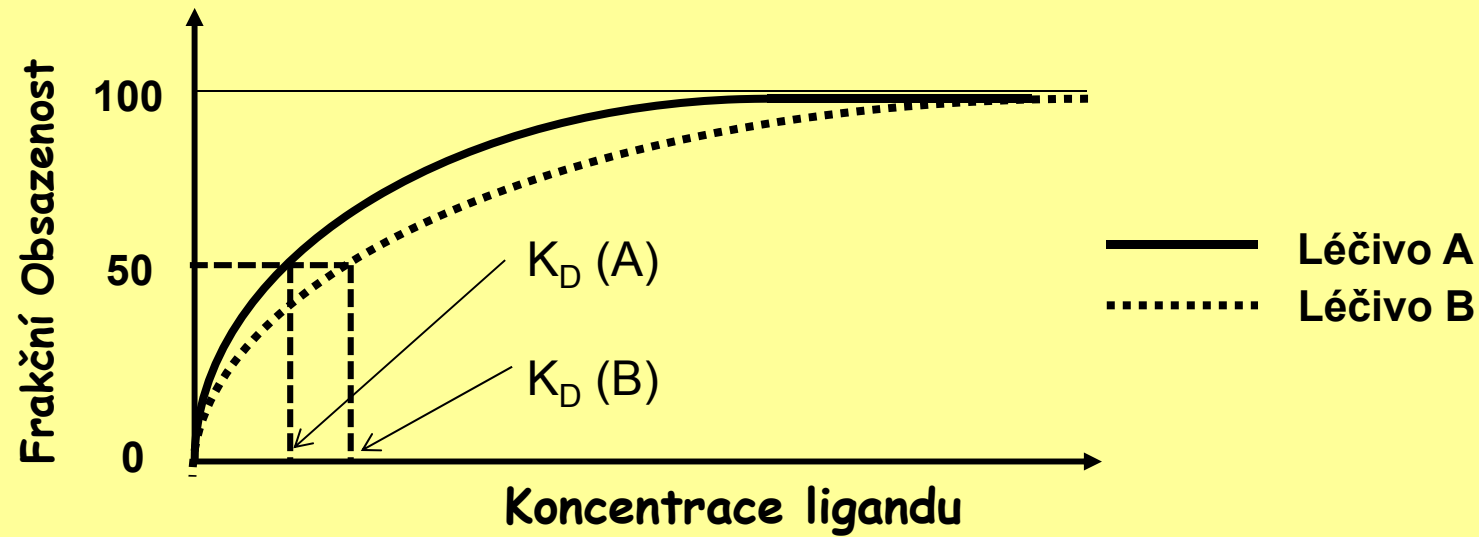
- $K_D$  = rovnovážná disociační konstanta

$$K_D = k_{\text{off}} / k_{\text{on}} = \frac{[L] \times [R]}{[LR]}$$

- $K_D$  je vyjádřena v molárních jednotkách (M/L) a vyjadřuje afinitu léčiva k danému receptoru
- pro  $K_D = [L]$  je obsazenost receptorů 50%



# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR



# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR

- jakmile dojde k vazbě ligandu, zůstává ligand vázaný na receptor po náhodný časový interval
- pravděpodobnost disociace je stejná v jakýkoliv okamžik po asociaci
- vazba je reverzibilní
- neexistuje částečná vazba; receptory jsou buď volné nebo obsazené
- všechny receptory jsou rovnocenné pro vazbu ligandu
- po disociaci ligandu by ligand i receptor měly zůstat nezměněny
- pokud je některý z nich fyzicky pozměněn, neplatí zákon o působení aktivní hmoty
- ligand by měl být „recyklovatelný“

# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR

- aktivace membránových receptorů a cílová buněčná odpověď jsou přímo úměrné stupni  
OBSAZENOSTI RECEPTORU

- POZOR:

koncentrace ligandu při které je obsazena  $\frac{1}{2}$  populace receptorů ligandem ( $K_D$ ) je často nižší než koncentrace potřebná k vyvolání poloviční maximální biologické odpovědi ( $EC_{50}$ )

- nezaměňovat tyto dvě veličiny!!!! i když křivky jsou si podobné!!!

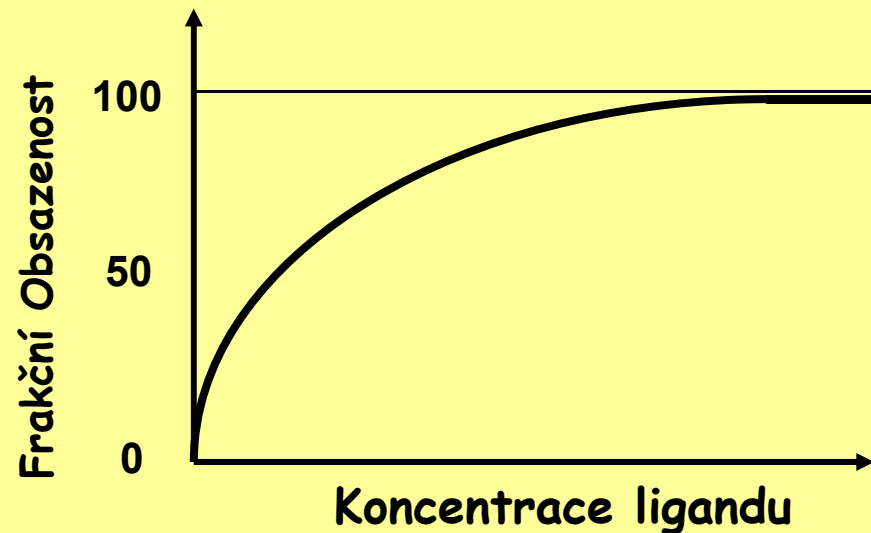
# FRAKČNÍ OBSAZENOST RECEPTORU

$$\text{F.O.} = \frac{[\text{LR}]}{[\text{celkový receptor}]} = \frac{[\text{LR}]}{[\text{LR}] + [\text{R}_{\text{free}}]}$$

• Nyní dosadíme vzorec pro výpočet  $K_D$

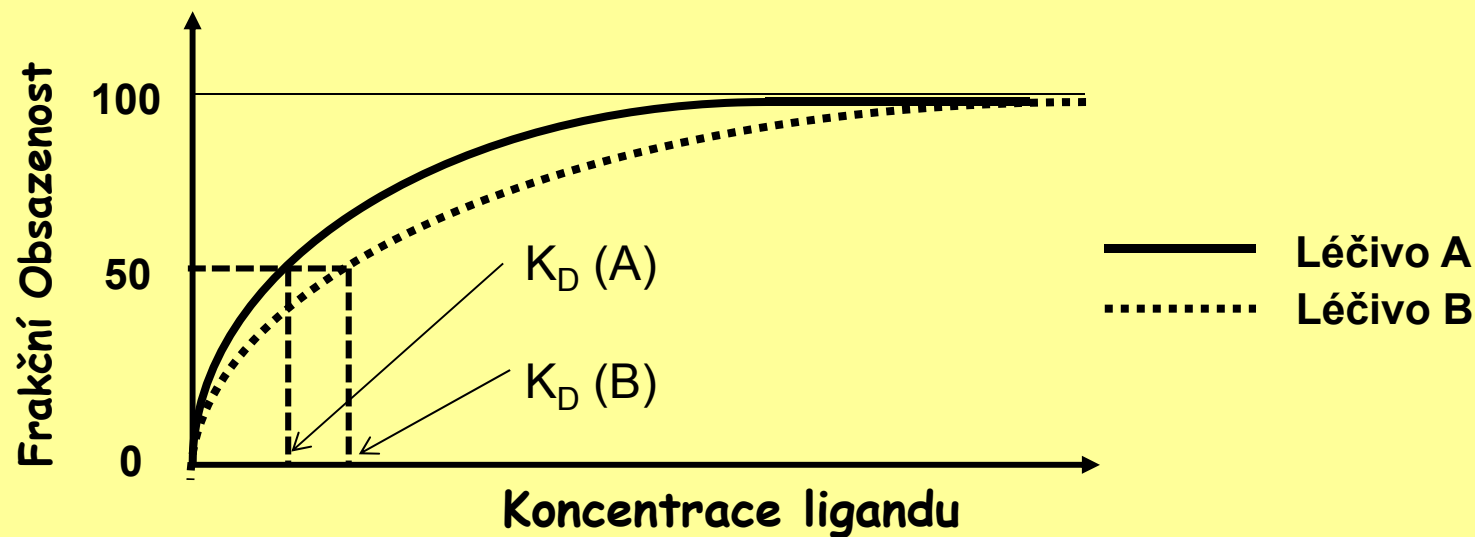
$$[\text{R}] = \frac{K_D \times [\text{LR}]}{[\text{L}]} \quad \rightarrow \quad \text{F.O.} = \frac{[\text{L}]}{[\text{L}] + K_D}$$

- $[\text{L}] = K_D = 50\% \text{ F.O.}$
- $[\text{L}] = \frac{1}{2} K_D = 30\% \text{ F.O.}$
- $[\text{L}] = 10 \times K_D = 90\% \text{ F.O.}$
- $[\text{L}] = 0 = 0\% \text{ F.O.}$



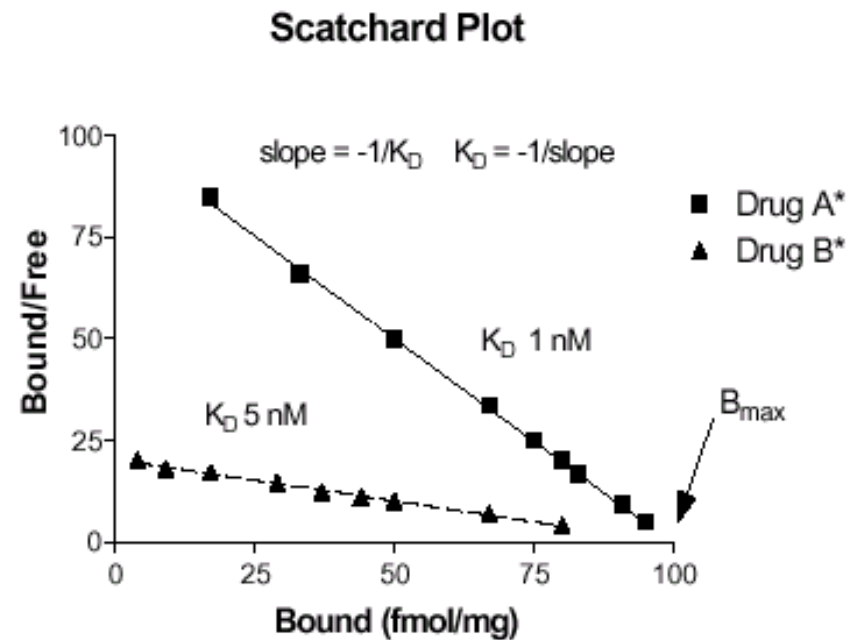
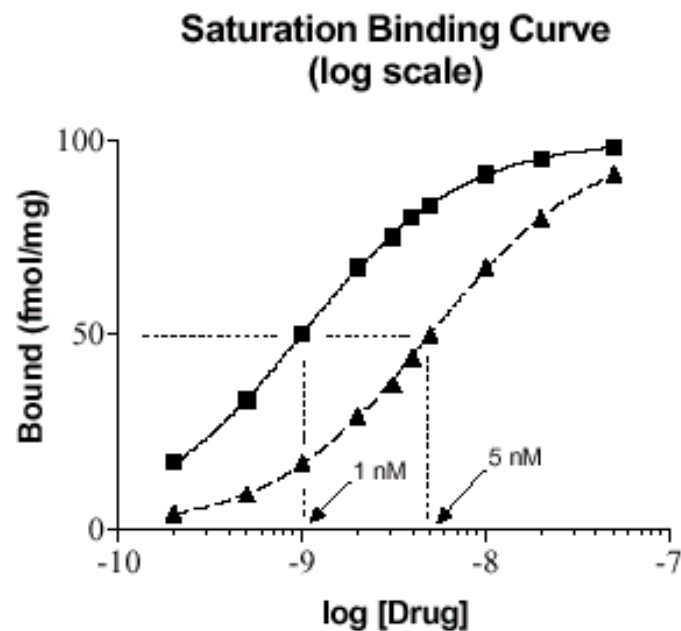
# SATURAČNÍ KŘIVKA

- lze přímo měřit množství (hustotu) receptorů v LR komplexu
- využívají se radioaktivně značené ligandy ( $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^3\text{H}$ )
- volba vhodného ligandu (agonista vs. antagonistu)
- antagonisté mají často vyšší afinitu, ale déle se ustavuje rovnováha
- saturační vazebná křivka odpovídá steady-state (rovnováha je teoretická)
- křivka poskytuje informaci o hustotě receptorů, afinitě a selektivitě ligandů



# SCATCHARD TRANSFORMACE

- F.O. vyjádřena v logaritmickém měřítku koncentrace L - sigmoidy
- pozor není totéž co dose-response
- osa Y - *Vázaný/Volný* (celkové množství vázaného radioligandu)
- osa X - *Vázaný* (pmol/mg proteinu)
- Scatchardovy transformace - snadnější interpretace přímky



# VAZBA LIGANDU NA RECEPTOR

Množství vázaného ligandu je v jakémkoliv čase dáno pouze:

- počtem receptorů
- koncentrací přidaného ligandu
- afinitou ligandu ke svému receptoru

Vazba ligandu na receptor je v podstatě totožná s vazbou substrátu na enzym a je definována rovnicí Michaelise-Menteové:

$$\text{Bound} = \frac{B_{\max} \times [\text{radioligand}]}{K_D + [\text{radioligand}]}$$

$$V_0 = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_M + [S]}$$

# KOMPETITIVNÍ VAZEBNÉ ESEJE

- radioaktivně značený ligand není vždy k dispozici - co s tím?

## *„competitive binding assays“*

- umožňují stanovit hrubým odhadem afinitu neznačeného ligandu k receptoru
- kompetitivní vs. nekompetitivní
- přidavek neradioaktivního ligandu (např. léčivo **B**), který se rovněž váže na **R** do inkubační směsi, povede k tomu, že méně molekul **R** bude dostupných pro vazbu agonisty **D\***; tj. sníží se množství vytvořeného komplexu **[D\*R]**
- tj. látka **B** soutěží s agonistou **D\*** o obsazení **R**
- se zvyšující se koncentrací **B** bude klesat množství tvořeného **[D\*R]**

## Technické provedení metody:

- jedna koncentrace značeného ligandu **D\***
- rostoucí koncentrace (logaritmicky) neznačeného/soutěžícího ligandu **B**

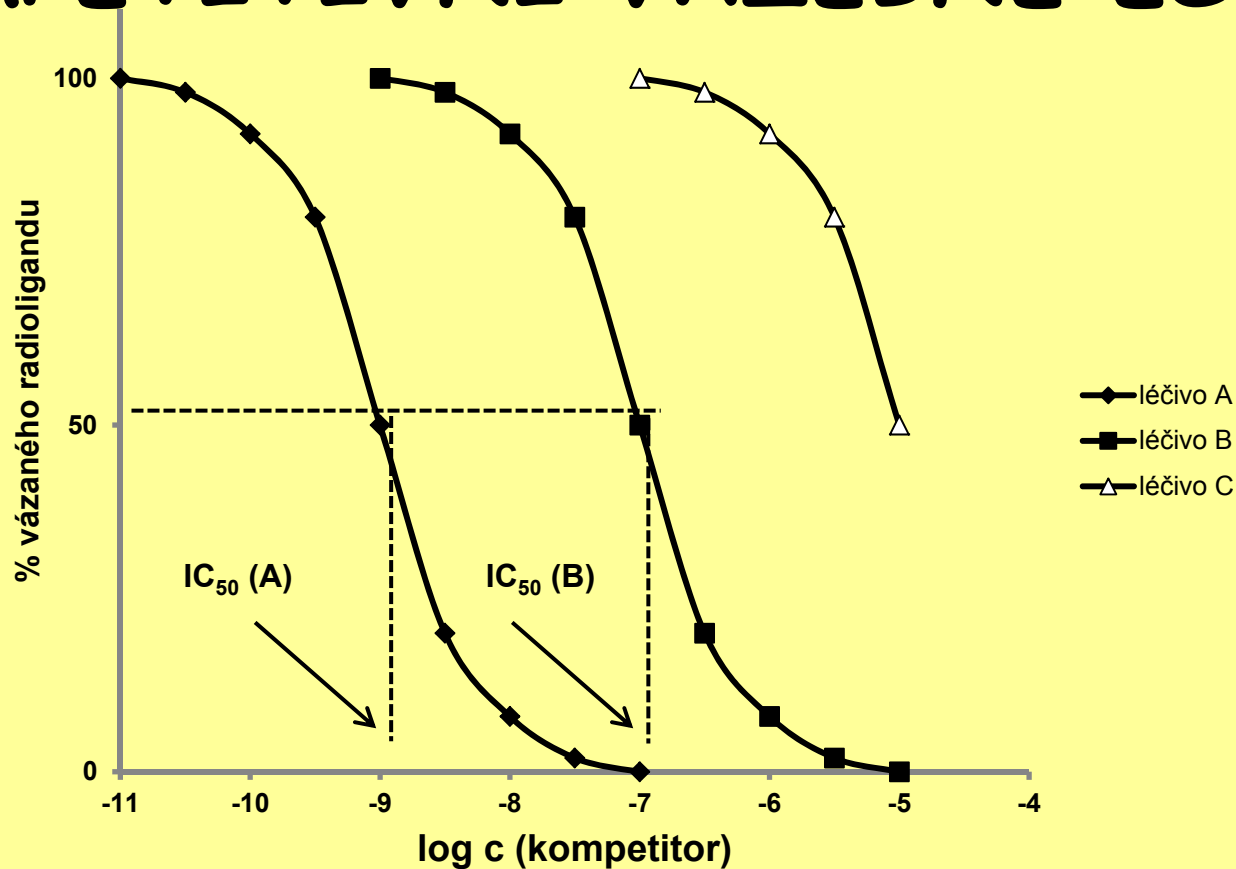


# KOMPETITIVNÍ VAZEBNÉ ESEJE

- koncentrace inhibitoru která vytěsňuje 50% radioaktivně značeného ligandu se označuje  $IC_{50}$  léčiva/ligandu
- v tomto případě není  $IC_{50}$  rovna  $K_D$ !!!! (protože se jedná jen o odhad - byl použit jiný neznačený ligand s odlišnou afinitou)
- $K_i$  = rovnovážná disociační konstanta inhibitoru;  
Jedná se o koncentraci soutěžícího ligandu, která by se vážala na 50% vazebných míst v nepřítomnosti radioaktivně značeného ligandu.
- pro stanovení  $K_i$  je třeba nejprve znát  $IC_{50}$ !!!
- využívá se rovnice Chenga a Prusoffa

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[radioligand]}{K_D}}$$

# KOMPETITIVNÍ VAZEBNÉ ESEJE



Příklad: Spočítejte  $K_i$  pro morfin v experimentu s  $^3\text{H}$ -diprenorfinem

$IC_{50}$  = 100 nM  
 $[L]$  = 3 nM  
 $K_D$  = 1 nM

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[radioligand]}{K_D}} = \frac{100}{1 + \frac{3}{1}} = 25 \text{ nM}$$

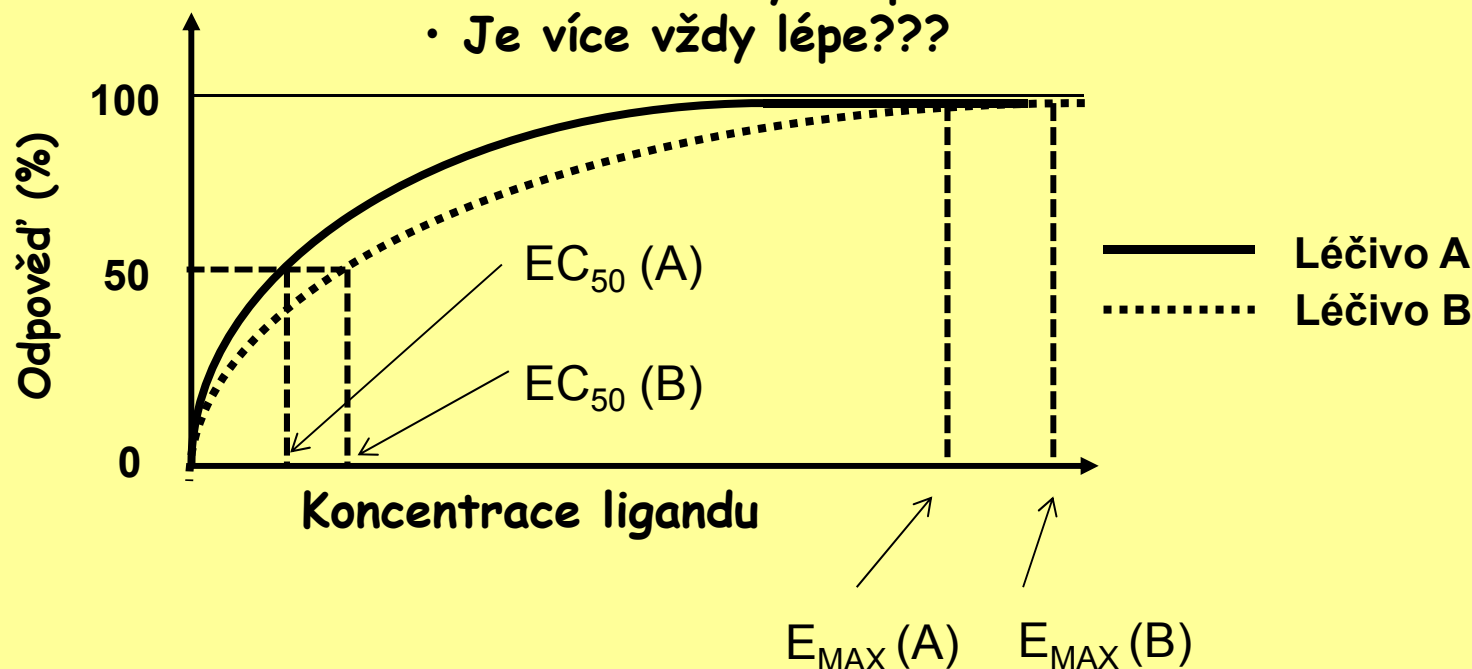
# DOSE-RESPONSE VZTAHY

- míra funkční odpovědi vyvolané léčivem/ligandem je nepřímým odhadem vazby této látky na receptor (F.O.)
- experimentace *in vivo*, *in vitro*, *ex vivo*

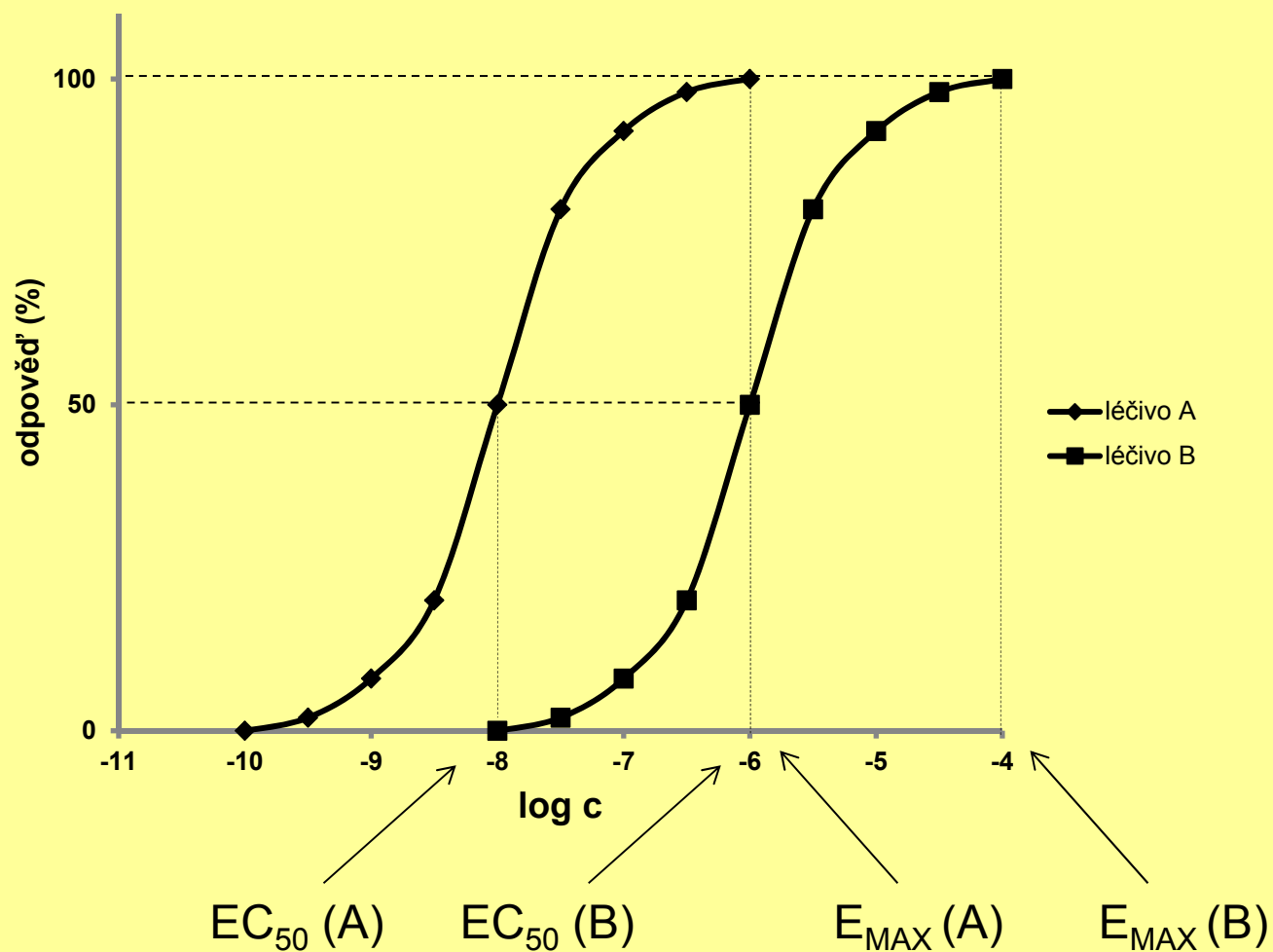
**OTÁZKA:** Je odpověď přímo úměrná obsazenosti receptoru?

- Clarkova teorie: „Účinek léčiva je přímo úměrný frakci receptorů obsazených tímto léčivem a maximální odpovědi je dosaženo při maximální obsazenosti receptorů.“

- Je toto nezbytně pravda???
- Je více vždy lépe???



# DOSE-RESPONSE VZTAHY



# FRAKČNÍ ODPOVĚĎ

- $R_f$  = frakční odpověď agonisty D
- koncentrace agonisty D vyvolávající maximální efekt ( $E_{max}$ ) se nazývá „*maximal effective concentration*“
- koncentrace agonisty D vyvolávající  $\frac{1}{2}$  maximálního účinku ( $EC_{50}$ ) se nazývá „*half-maximal effective concentration*“
- vyjádříme-li koncentraci agonisty v logaritmickém měřítku, dostaneme sigmoidní závislost dose-response

$$[D] = EC_{50} = 50\% R_f$$

$$[D] = 10 \times EC_{50} = 90\% R_f$$

$$[D] = 100 \times EC_{50} = 99\% R_f$$

$$R_f = \frac{[D]}{EC_{50} + [D]}$$

# PARCIÁLNÍ AGONISTÉ

- někteří agonisté nikdy nevyvolají maximální odpověď (ve srovnání s endogenním ligandem), přestože jsou všechny receptory obsazeny!!!

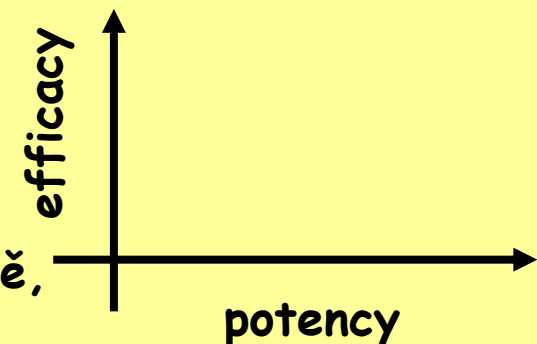
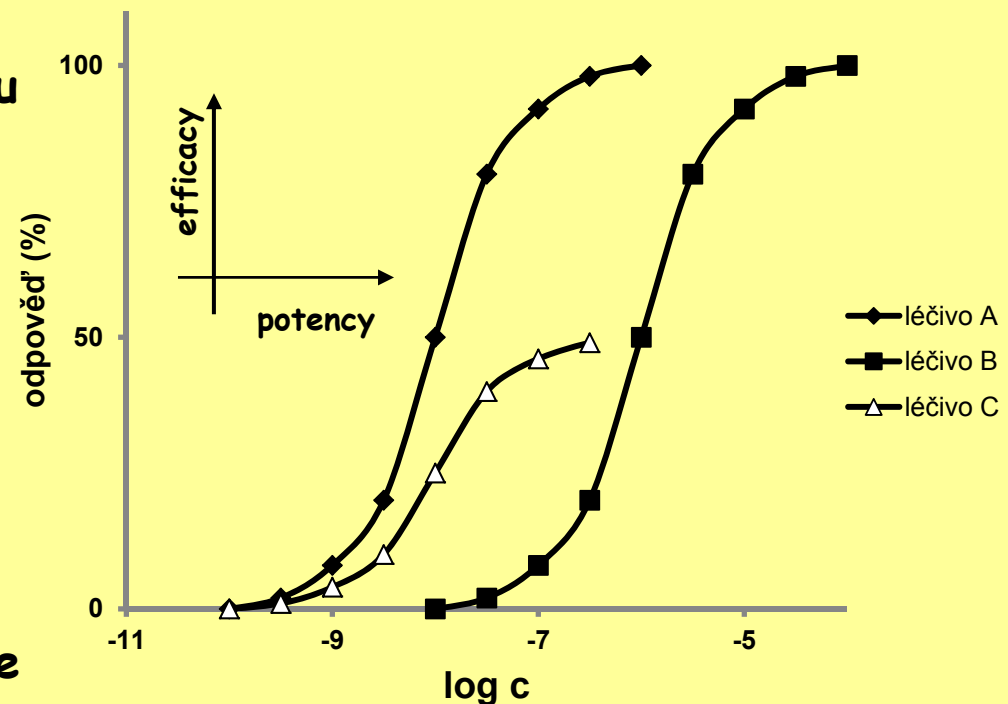
- ale  $EC_{50}$  parciálních agonistů jsou dost blízké full agonistům

- parciální agonisté mají podobnou POTENCI ale nižší EFFICACY (vnitřní aktivita = 0 ~ 1)

- látka s vysokou efficacy potřebuje obsadit méně receptorů aby vyvolala stejnou odpověď jako látka s nízkou efficacy

- proč? Může nastat několik konformačních změn působením různých agonistů

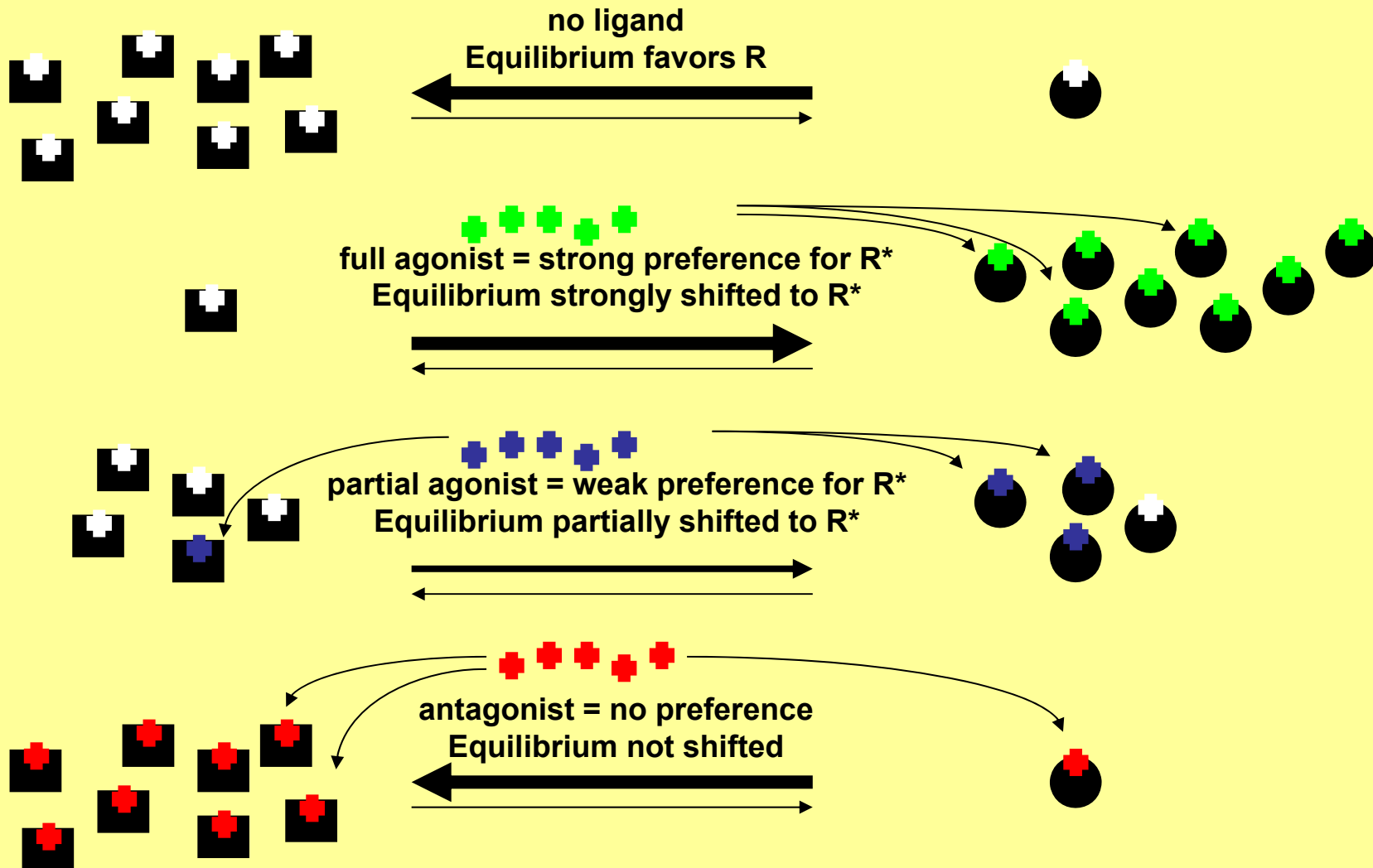
- analogicky - parciální agonisté budou vykazovat velmi malou nebo neměřitelnou funkční odpověď a to i v případě, že podstatné množství receptorů bude obsazeno



# TWO STATE MODEL

Resting State R

Activated State R\*

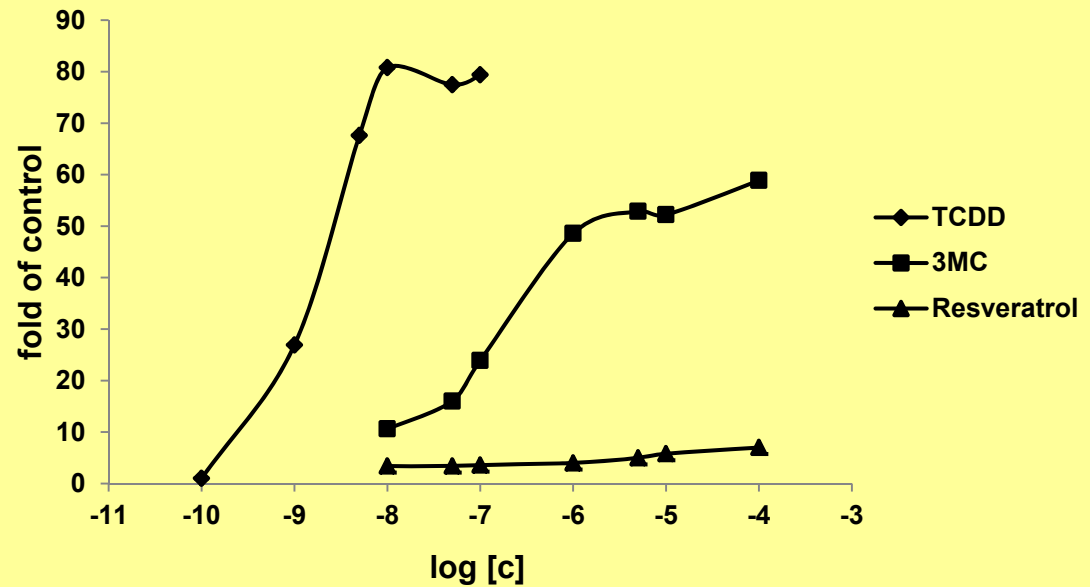
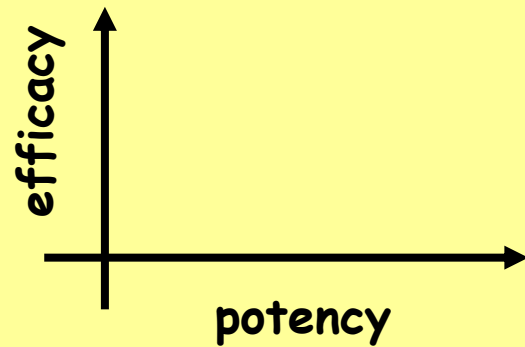


(Leff P 1995 *Trends in Pharmacological Sciences*)

# Resveratrol Enhances NK Cell Cytotoxicity: Possible Role for Aryl Hydrocarbon Receptor

PETR BACHLEDA, RADIM VRZAL, AND ZDENEK DVORAK\*

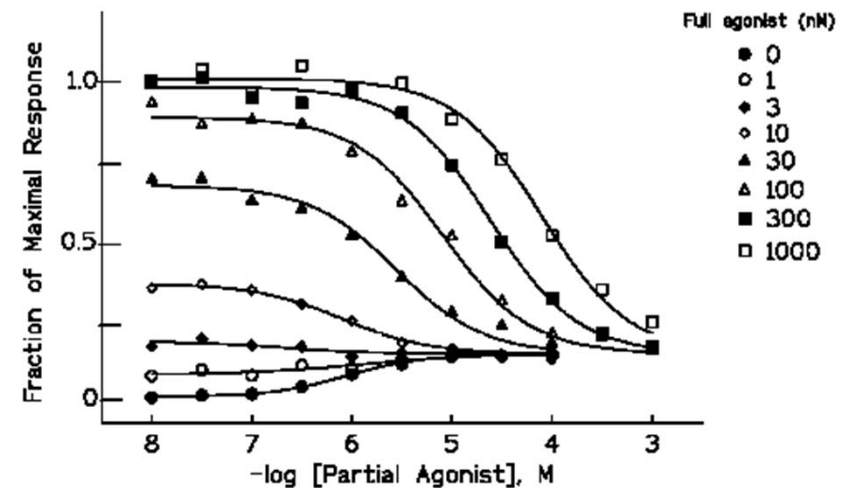
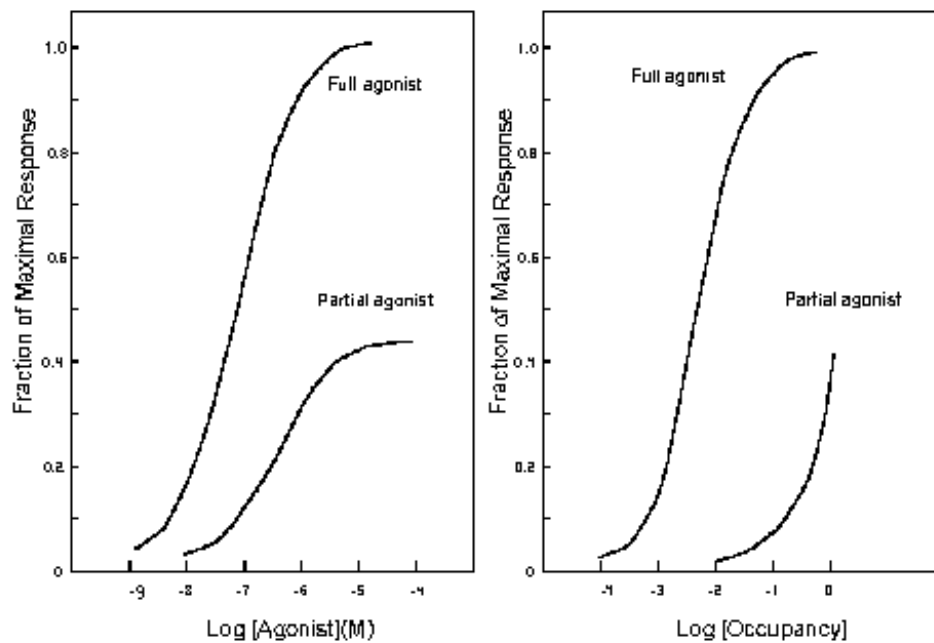
Faculty of Science, Department of Cell Biology and Genetics, Palacky University Olomouc, Olomouc, Czech Republic



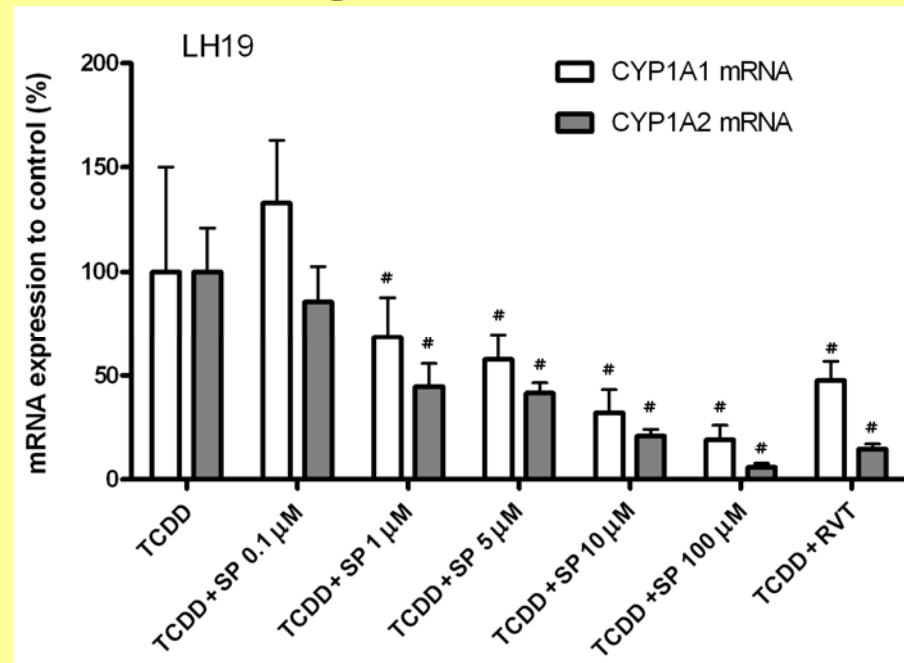
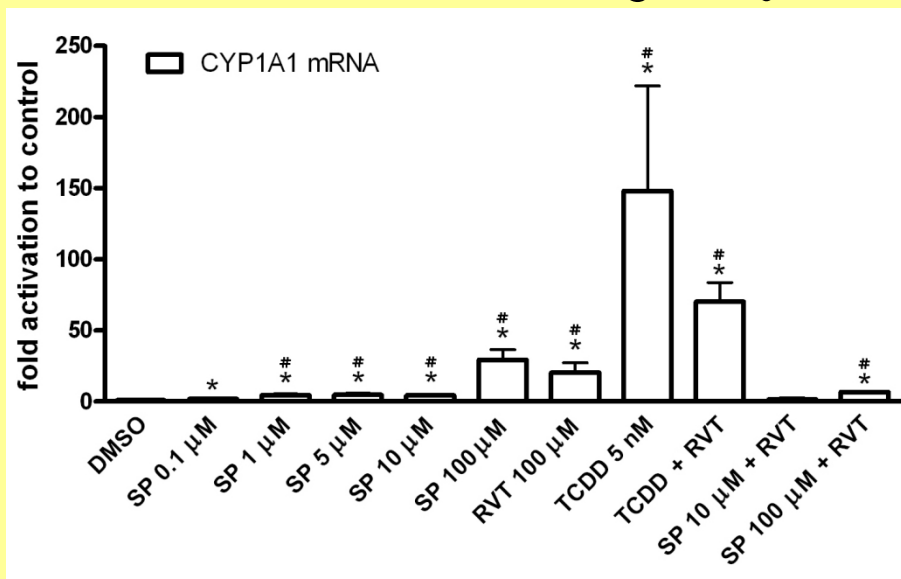


# PARCIÁLNÍ AGONISTÉ SE CHOVAJÍ JAKO FUNKČNÍ ANTAGONISTÉ

- často užívané při terapii závislostí - blokací receptoru nedochází k uspokojení po akci agonisty
- jedná se v zásadě o kompetici mezi full a partial agonisty
- metadon-heroin (opiátové receptory)
- rimonabant-endokanabinoidy (antiobesity drug)



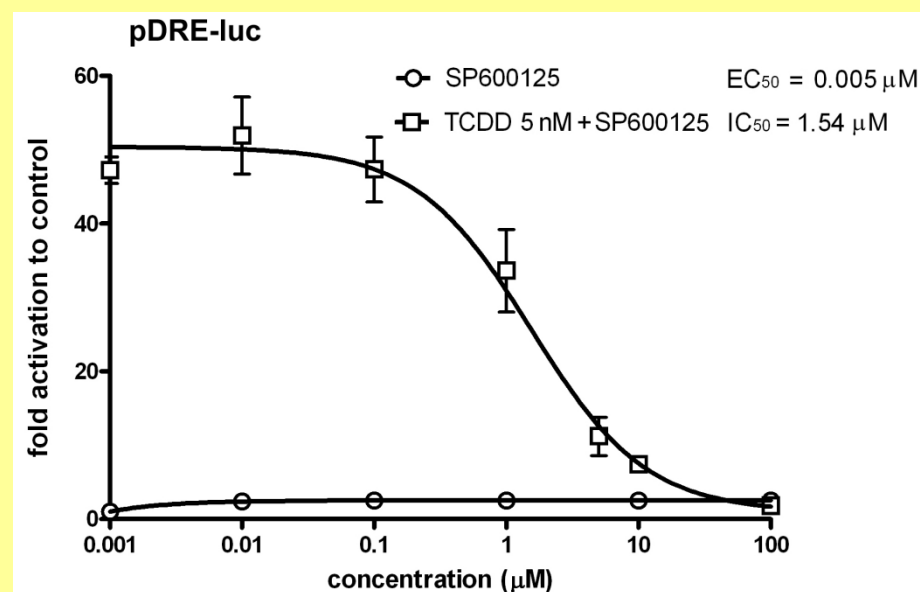
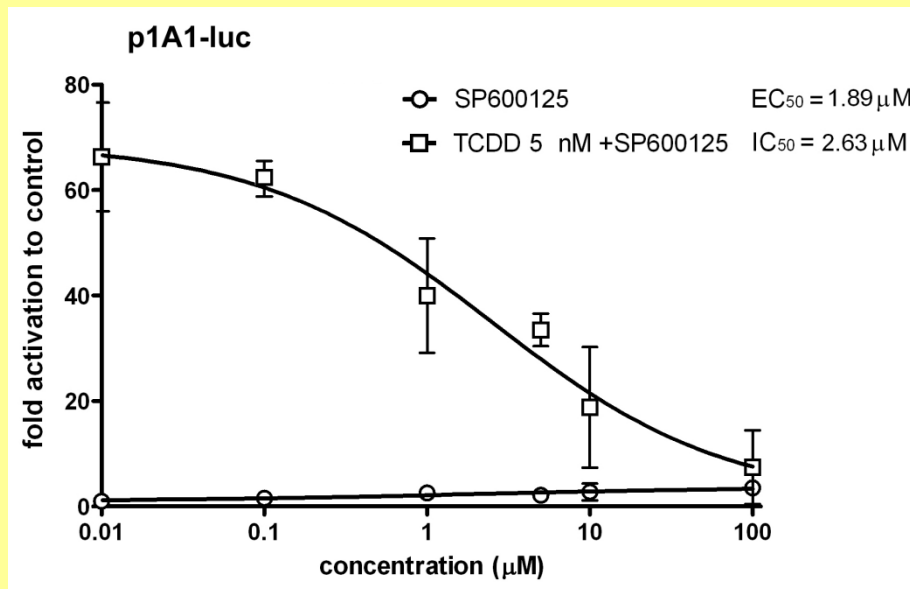
# SP600125 je parciální agonista AhR



- Maximální indukce SP600125 ( $1 \times 10^{-4}$  M) dosáhla cca 5-20% indukce TCDD ( $5 \times 10^{-9}$  M)  $\Rightarrow$  submaximální aktivace = parciální agonismus
- SP600125 má nižší EFFICACY i POTENCY než TCDD!!!
- indukce CYP1A s TCDD byla inhibována SP600125

Dvorak Z. et al. (2008) JNK inhibitor SP600125 is a partial agonist of human aryl hydrocarbon receptor and induces CYP1A1 and CYP1A2 genes in primary human hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 75(2):580-588.

# SP600125 je parciální agonista AhR



- SP600125 transaktivoval pDRE-luc ( $EC_{50}$  0.005  $\mu M$ ) a p1A1-luc ( $EC_{50}$  1.89  $\mu M$ ) reportéry.
- SP600125 inhiboval transaktivaci pDRE-luc ( $IC_{50}$  1.54  $\mu M$ ) a p1A1-luc ( $IC_{50}$  2.63  $\mu M$ )

Dvorak Z. et al. (2008) JNK inhibitor SP600125 is a partial agonist of human aryl hydrocarbon receptor and induces CYP1A1 and CYP1A2 genes in primary human hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 75(2):580-588.

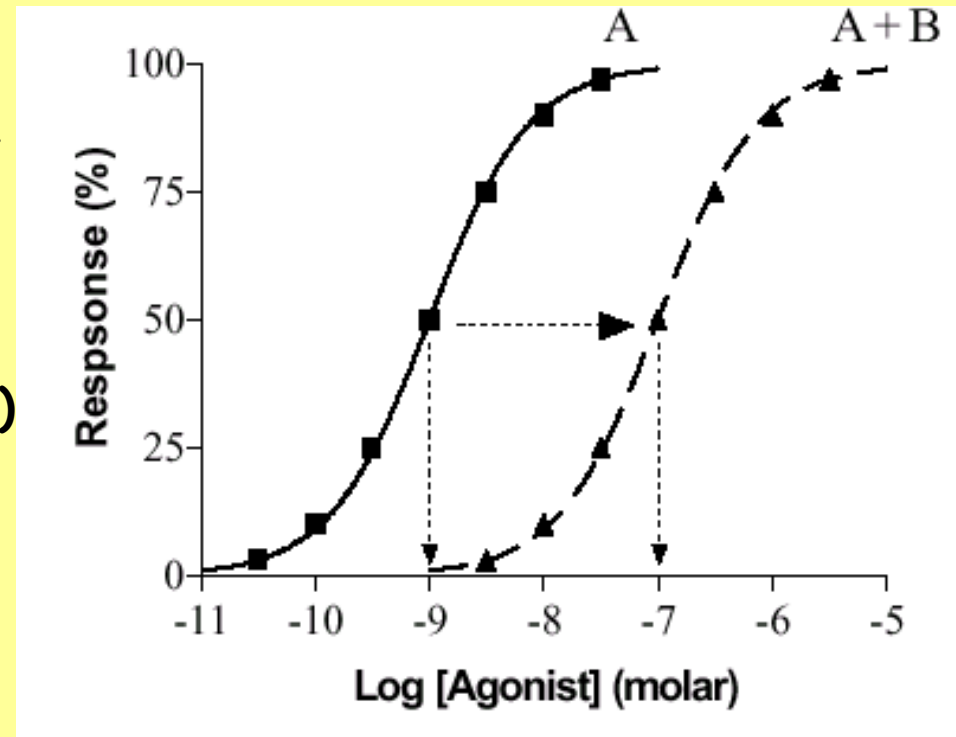
# RECEPTOROVÝ ANTAGONISMUS

## ANTAGONISMUS

- chemický (interakce v roztoku - vznik komplexů, dithiokarbamáty atd.)
  - farmakokinetický (snížení koncentrace léčiva v místě účinku - v zásadě NEPŘEDVÍDATELNÉ)
  - **receptorový** (kompetitivní vs nekompetitivní)
  - fyziologický (opačný účinek - např insulin a glukagon)
- 
- **antagonisté blokují odpověď vyvolanou agonisty - brání vazbě léčiva a vyvolání normální odpovědi**
  - **vnitřní aktivita = 0**
  - **nejsou citliví k účinku Na<sup>+</sup> nebo GTP**
  - **u antagonistů definujeme selektivitu, afinitu a potenci**
  - **časté využití v terapii, strategičtější jsou ale inverzní agonisté**

# KOMPETITIVNÍ ANTAGONISMUS

- reversibilní a ireversibilní
- vazba na stejné místo jako endogenní ligand nebo agonista
- antagonismus může být vyrušen (surmountable - nadbytkem ligandu)
- dochází k posunu do prava u křivek pro dose-response i pro F.O.
- nemění se  $E_{max}$  a  $B_{max}$
- podobný tvar v křivkách dose-response je znakem přítomnosti kompetitivního antagonisty



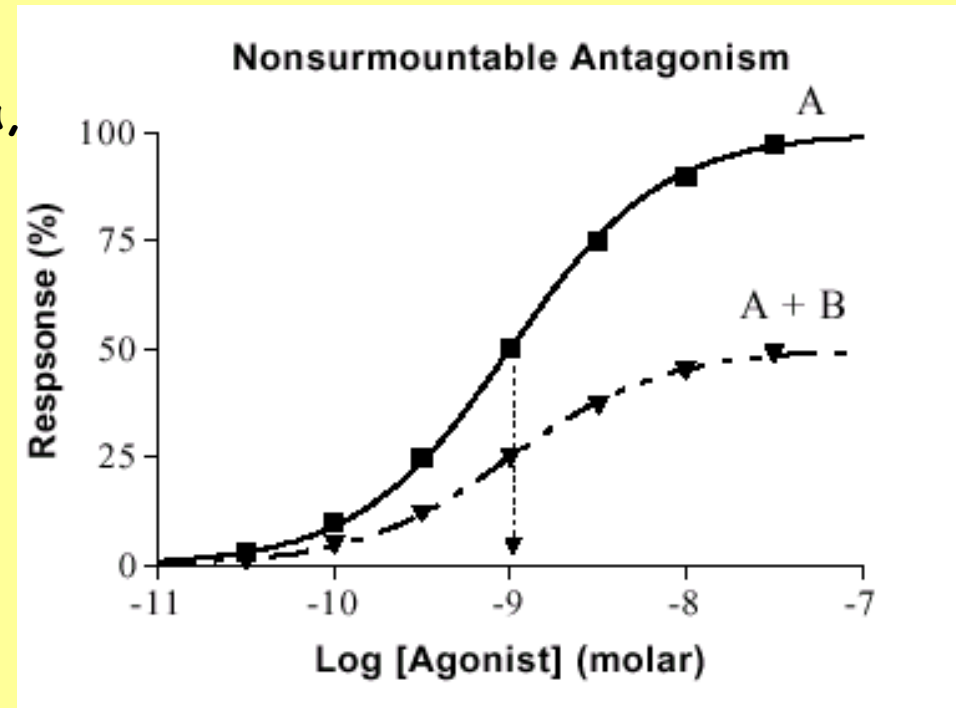
A = agonista samotný

B = antagonist (v jedné koncentraci)

A+B = agonista + antagonist

# NEKOMPETITIVNÍ ANTAGONISMUS

- nedochází k inhibici tvorby komplexu DR, ale je narušena konformační změna, která spouští buněčnou odpověď
- vazba do jiného místa než vazebného místa pro agonisty - allosterická vazba
- antagonismus není vyrušen nadbytkem ligandu (nonsurmountable)
- jsou sníženy  $E_{max}$  a  $B_{max}$
- hodnota  $EC_{50}$  je u nepostižených receptorů nezměněna
- dose-response křivky mají odlišný tvar což je typické pro odlišná vazebná místa



# NEKOMPETITIVNÍ ANTAGONISMUS

## VÝHODY:

Jakmile je receptor obsazen antagonistou, již není potřeba další přítomnosti antagonisty ve volné formě k udržení účinku a doba působení je relativně nezávislá na metabolismu antagonisty, ale spíše závisí na turnoveru receptoru

## NEVÝHODY:

př. fenoxymetazol - ireversibilní antagonist  $\alpha$ -adrenergních receptorů se využívá k léčbě hypertenze u pacientů s feochromocytomem. Při předávkování nelze účinek zvrátit agonistou a je třeba použít fyziologické antagonisty

# IREVERSIBILNÍ ANTAGONISTÉ

- váží se nevratně, obvykle dochází ke kovalentní modifikaci receptoru (např. N-ethylmalemid a další SH- nebo alkylační činidla; neselektivní)
- protilátky
- molekulární kontrola (např. MUTACE)
- blokace vazby na atomární úrovni
- efektivně a prakticky snížené množství receptorů schopné vázat agonisty
- přídavek dalšího agonisty je neúčinný!!!
- jediné řešení: PROTEOSYNTESA RECEPTORU *DE NOVO*



# RECEPTOR-EFFECTOR COUPLING

- vazba agonisty na receptor a následně vyvolaná konformační změna jsou obvykle jen prvními kroky z mnoha kroků potřebných k dosažení výsledného farmakologického účinku

**SROVNEJME** nikotinový acetylcholinový receptor a  $\beta$ -adrenergní receptor:

- nikotinový AChR po vazbě acetylcholinu bezprostředně otevírá kanál a ionty mohou ihned proudit skrz pór
- $\beta$ -adrenergní receptor je GPCR, aktivuje G-protein a následně cAMP kaskádu, dále PKA, enzymy metabolismu glukosy a glykogenu...atd...mnoho kroků po finální metabolickou odpověď - např. glykogenolýzu

- proces přenosu mezi obsazeným receptorem a výslednou odpovědí na léčivo se nazývá „coupling“

- účinnost couplingu částečně závisí na počáteční konformační změně receptoru

- tj. účinek full agonistů může být efektivněji „coupled“ než účinek parciálních agonistů

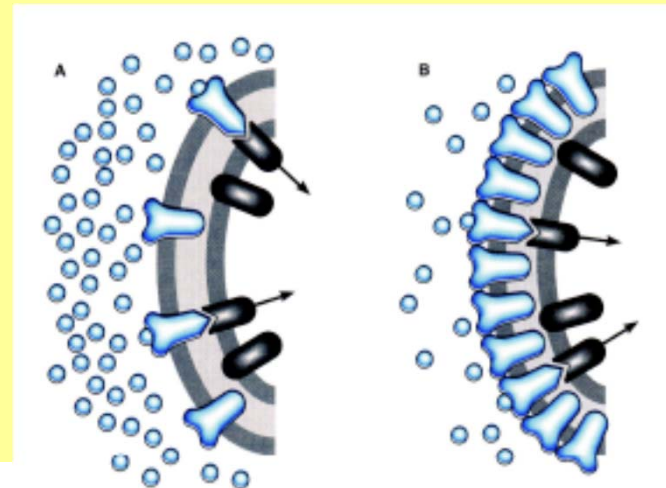
- účinnost couplingu je ale také dána biochemickými událostmi, které zajišťují přenos od obsazeného receptoru do buněčné odpovědi

# „SPARE“ RECEPTORY

- SPARE RECEPTOR = maximální odpověď je vyvolána agonistou v koncentraci, která nedostačuje k plné obsazenosti dané populace receptorů
- „spare“ - spořivé, postradatelné receptory
- mechanismy jsou někdy známy - např. vazba GTP na intermediátor dlouho přetrvává po interakci agonista-receptor; tato „spareness“ je dočasná!
- někdy se aplikuje představa že jsou receptory SPARE v počtu

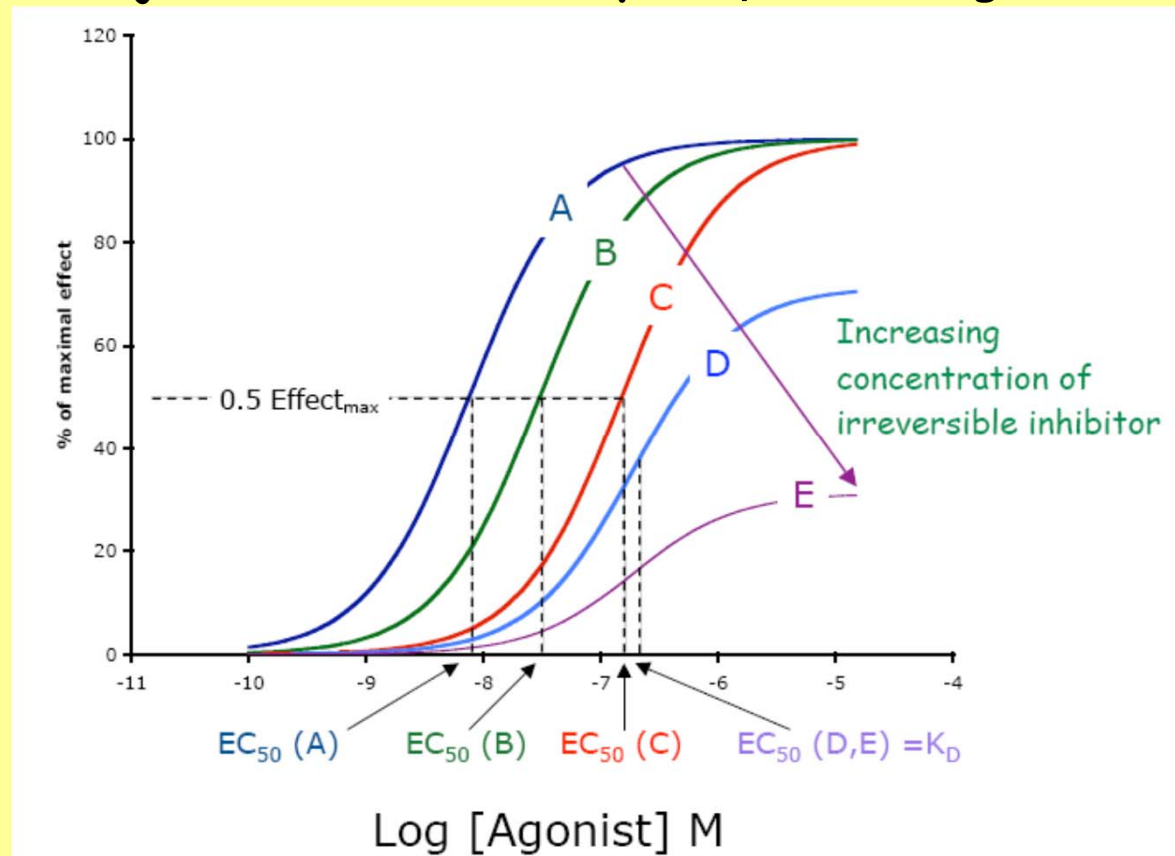
**A** - koncentrace volného agonisty =  $K_D$ ; tj. dostatečná k vazbě na 50% receptorů ze čtyř přítomných. Obsazeny jsou tedy 2 receptory a ty vyvolají odpověď přes 2 efektor; protože jsou obsazeny 2 ze 4 receptorů, dosáhne se 50% max. odpovědi

**B** - koncentrace receptorů je desetinásobná oproti **A**; hodnota  $K_D$  je nezměněná. Nyní velmi malá koncentrace agonisty ( $=0.05 \times K_D$ ) postačí k obsazení 2 receptorů a k následné aktivaci 2 efektorů. Dosáhneme tedy 50% max. odezvy stejně jako v případě **A** při mnohem nižší koncentraci agonisty.



# „SPARE“ RECEPTORY

- průkaz SPARE receptorů pomocí ireversibilních antagonistů - tyto snižují aktivní pool receptorů schopných vázat ligand a přesto nedojde k inhibici farmakologické odpovědi
- maximální ionotropní odpověď srdečního svalu na katecholaminy může být vyvolána i když je 90%  $\beta$ -adreno receptorů obsazeno quasi-ireversibilním antagonistou; tj. myokard obsahuje značné množství spare  $\beta$ -adrenergických r.



# PODTYPY RECEPTORŮ

- u mnoha druhů receptorů existuje více podtypů
- pro jednotlivé podtypy - selektivní agonisté a antagonisté
- odlišné farmakologické efekty (např. histaminové či opiátové receptory)

## TYP RECEPTORU

$\mu$ -receptor  
 $\mu 1, \mu 2, \mu 3$

$\delta$ -receptor  
 $\delta 1, \delta 2$

$\kappa$ -receptor  
 $\kappa 1, \kappa 2$

## SELEKTIVNÍ AGONISTÉ

endomorfín-1  
endomorfín-2  
DAMGO

[D-Ala]-delt. I  
[D-Ala]-delt. II  
DPDPE  
SNC 80  
DSLET

enadolin  
U-50488  
U-69593

## SELEKTIVNÍ ANTAGONISTÉ CTAP

naltrindol  
TIPP- $\psi$   
ICI 174864

nor-binal-  
torfimin

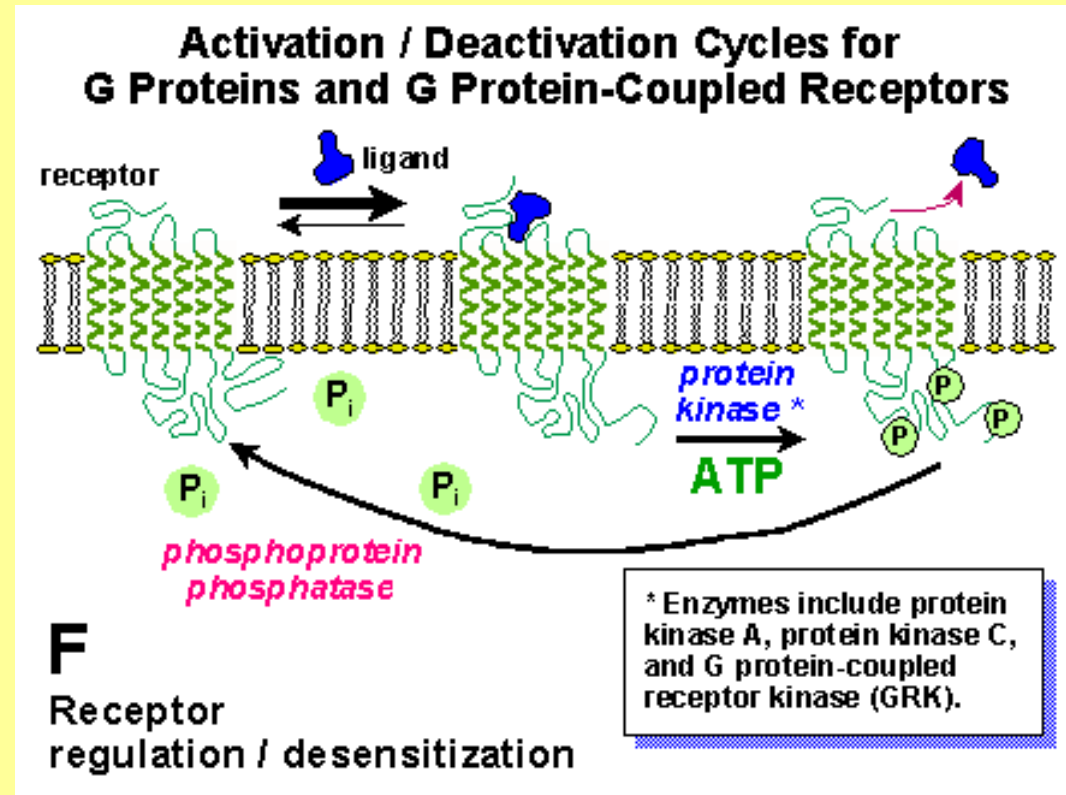
# DESENZITIZACE RECEPTORŮ

Ztráta afinity agonisty k receptoru, ale ne počtu receptorů po chronické stimulaci agonistou

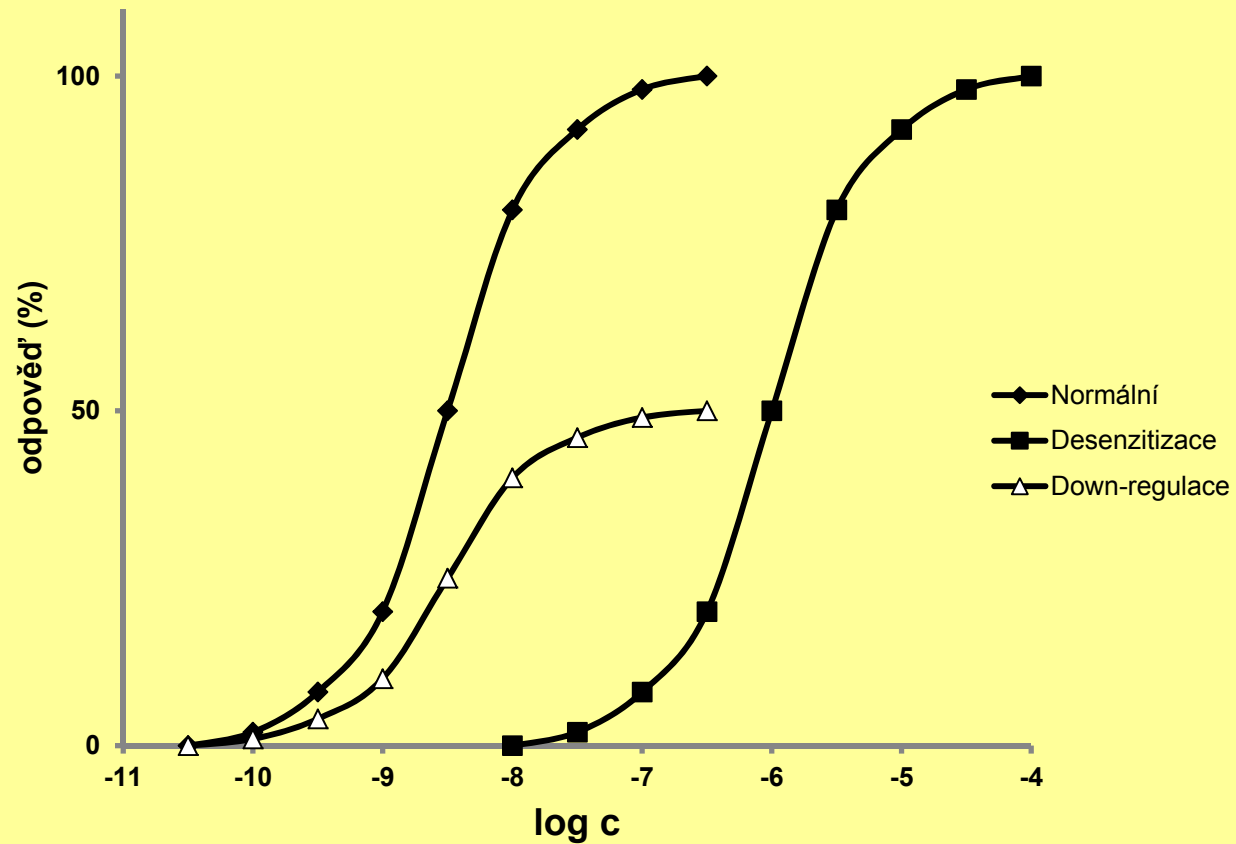
- např.  $\beta$ 2-adrenergní receptor
- aktivace PAK/GRKs
- fosforylace,  $\beta$ -arrestin

- „un-coupling“ receptoru a efektoru
- výsledkem je posun vazebné křivky doprava

- např.  $K_D$  isoproterenolu roste (1  $\rightarrow$  100 nM)
- $B_{max}$  se nemění

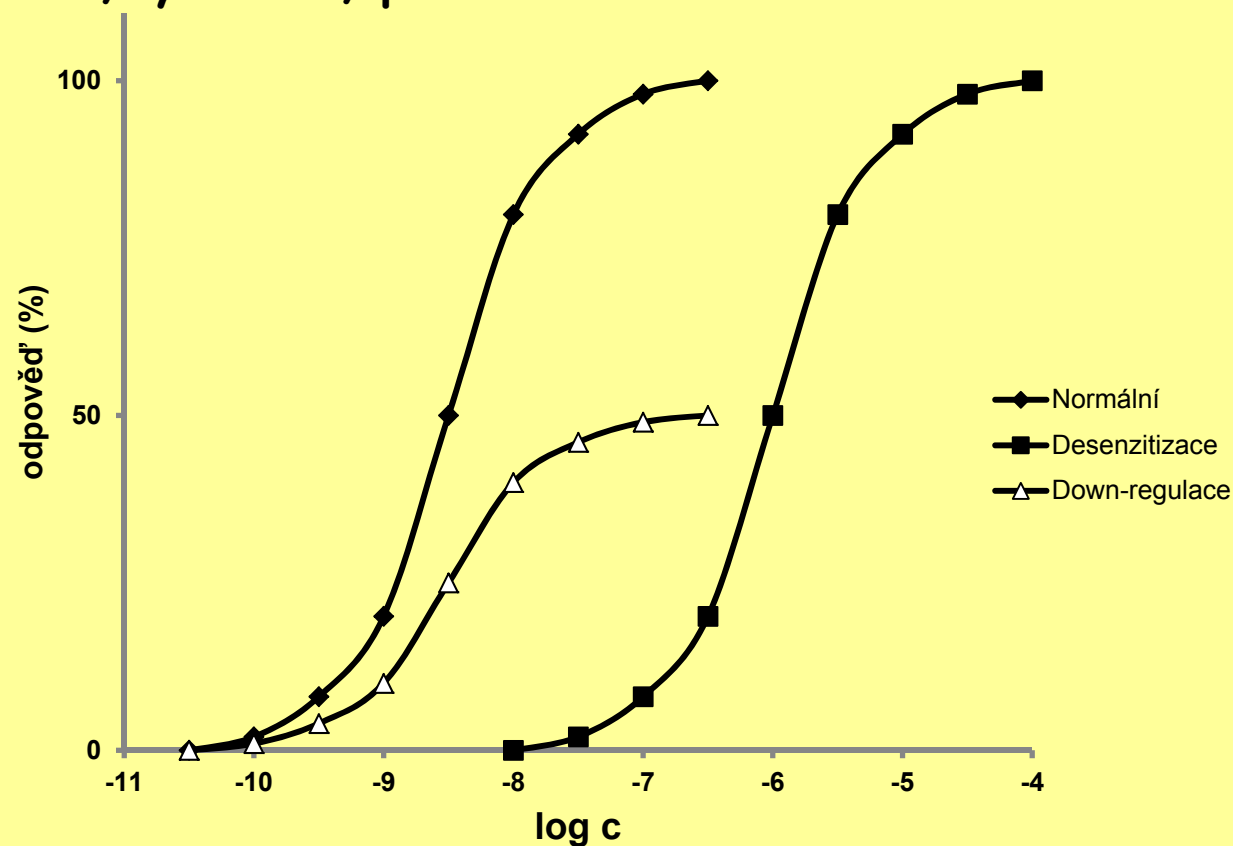


# DESENZITIZACE RECEPTORŮ



# DOWN-REGULACE RECEPTORŮ

- proteolytická degradace receptoru (pokles množství molekul receptoru)
- úloha PKC v endocytose
- klesá  $B_{max}$ ;  $K_D$  zůstává nezměněna
- úloha endosomů, lysosomů, proteasomu



**DĚKUJI ZA POZORNOST**