

RECEPTORES β -ADRENÉRGICOS NO SISTEMA CARDIOVASCULAR

β -ADRENOCEPTORS FUNCTION IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

Mário A Neto¹, Ricardo R Rascado¹, Lusiane M Bendhack²

¹Pós-Graduandos (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. ²Docente. Departamento de Física e Química. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP.

CORRESPONDÊNCIA: Profa. Dra. Lusiane M. Bendhack.

Laboratório de Farmacologia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Av. do Café s/nº - 14040-903 Ribeirão Preto - SP Fax: 16-36024880 . e-mail: bendhack@usp.br

Neto MA, Rascado RR, Bendhack LM. Receptores β -adrenérgicos no sistema cardiovascular. Medicina (Ribeirão Preto) 2006; 39 (1): 3-12.

Resumo: Os receptores β -adrenérgicos (β -AR) integram um sistema proteico ternário: β -AR, proteína G de acoplamento e enzimas como a adenilato-ciclase (AC) que produz o 3'-5' monofosfato de adenosina (AMPc). O principal mecanismo de ação do AMPc é a ativação da proteína quinase A (PKA), capaz de fosforilar inúmeros substratos. Em células endoteliais, a ativação dos β -AR promove o aumento dos níveis citoplasmáticos de Ca^{+2} favorecendo a ligação do Ca^{+2} com a calmodulina e deste complexo com a enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), resultando na produção de NO. A ativação β -AR no músculo liso vascular e conseqüente ativação da PKA reduz a concentração citoplasmática de Ca^{+2} e a sua afinidade pela calmodulina, resultando no relaxamento vascular. Os receptores β -AR podem ser agrupados em β -AR clássicos (β_1 e β_2) e β -AR atípicos (β_3 e β_4). Os agonistas β -AR são classificados em não seletivos (isoprenalina), seletivos β_1 (xamoterol) e seletivos β_2 (terbutalina, salbutamol) e podem ser usados em várias situações clínicas, como broncodilatadores ou como estimulantes cardíacos. O desenvolvimento de agonistas β_3 -AR como BRL-37344, CGP 12177 e CL 316243, bem como de antagonistas β -AR têm merecido especial atenção devido à sua eficácia no tratamento da hipertensão arterial, certas arritmias cardíacas e isquemia cardíaca. A busca por antagonistas seletivos resultou na síntese de vários compostos como: atenolol, bisoprolol, betaxolol, practolol e CFP20712A (antagonistas β_1 -AR seletivos), ICI 118551 (antagonista β_2 -AR seletivo), SR59230A (antagonista β_3 -AR seletivo), bupranolol e CGP20712A (antagonistas β_4 -AR seletivos).

Descritores: Receptores β Adrenérgicos. AMPc. GMPc. Vasodilatação. Endotélio Vascular.

1- RECEPTORES β -ADRENÉRGICOS

O sistema nervoso simpático desempenha um importante papel no controle da pressão arterial, especialmente em situações patológicas como na hipertensão arterial. O músculo liso vascular é inervado por fibras nervosas do sistema autônomo simpático e os neurotransmissores liberados desses terminais nervosos podem afetar as funções do músculo liso vascular.

As catecolaminas como a adrenalina e a noradrenalina, regulam processos fisiológicos pela ativação de receptores adrenérgicos específicos localizados na membrana celular, dependendo da dose, do tecido e do agonista¹. A partir destes estudos, os receptores foram classificados em α -adrenérgicos (α -AR) e β -AR (β -AR). Mais tarde, Lands et al. (1967)² descreveram subtipos distintos de β -AR: β_1 e β_2 -adrenérgicos. A subdivisão dos receptores β -AR em β_1

(prevalente no miocárdio e responsável pelo inotropismo e cronotropismo positivos) e β_2 (prevalente nos músculos lisos e esqueléticos, responsável pelo relaxamento muscular) foi baseado em diferenças na potência dos agonistas adrenalina e noradrenalina. Estas catecolaminas são equipotentes na ativação de β_1 -AR, mas a adrenalina é mais potente do que a noradrenalina em ativar β_2 -AR. Posteriormente, foi isolado o gene humano responsável por codificar o β_3 -AR^{3,4}. Além destes, foi identificado o β_1 -AR em estado de baixa afinidade (possível β_4 -AR)⁵ também classificado como receptor β -atípico. As propriedades farmacológicas dos β -AR atípicos foram bem descritas^{6,7} e se caracterizam por apresentar (a) baixa afinidade por antagonistas β -AR clássicos como propranolol, (b) ativação por agonistas β_3 -AR seletivos como BRL 37344, SR 58611A e CL316243, (c) ativação por agonistas parciais não-convencionais (antagonistas β_1 , β_2 -AR e agonistas β_3 em altas concentrações) como CGP 12177A, cianopindolol e pindolol, (d) bloqueio por antagonistas β_3 -seletivos como SR 59230A. O quarto subtipo de β -AR, o possível β_4 -AR, se caracteriza por apresentar as propriedades (a) e (c), mas não as propriedades (b) e (d) citadas acima^{5,8,9,10}.

A clonagem do terceiro subtipo de β -AR (β_3) permitiu a explicação de alguns efeitos das catecolaminas que não estavam relacionados à ativação dos receptores β_1 e β_2 -AR³. Os β_3 -AR foram caracterizados em vários tecidos como: adiposo¹¹, gastrointestinal¹², musculatura lisa brônquica¹³ e coração humano¹⁴. Recentemente, foi sugerida a participação de β_3 -AR no relaxamento do músculo liso vascular¹⁵.

De acordo com Kaumann (1989⁵), alguns “agonistas não-convencionais” como o CGP12177, produzem efeitos cardíacos pela ativação de um tipo de β -AR diferente dos subtipos até então conhecidos, sendo um possível β_4 -AR acoplado à ativação da AC via proteína G_s ¹⁶. Porém, em estudos posteriores os autores verificaram que o β_4 -AR era um estado conformacional do β_1 -AR e que apresentava um sítio de ligação de baixa afinidade para os agonistas e antagonistas convencionais¹⁷. Dessa forma, o β_4 -AR foi identificado como sendo o β_1 -AR num estado de conformação de baixa afinidade.

Os receptores podem coexistir em um estado de equilíbrio que varia de sua configuração inativa à configuração ativada. Na ausência de agonista, a população basal de receptores ativados é determinada pelo equilíbrio entre estes dois estados conformacionais. Schwartz et al. (1999)¹⁸ propuseram um “modelo

multi-estado conformacional” com vários estados intermediários entre o inativo e o ativado, justificando variações relativas à afinidade dos agonistas.

2- VIA DE TRANSDUÇÃO INTRACELULAR ACOPLADA AOS RECEPTORES β -AR

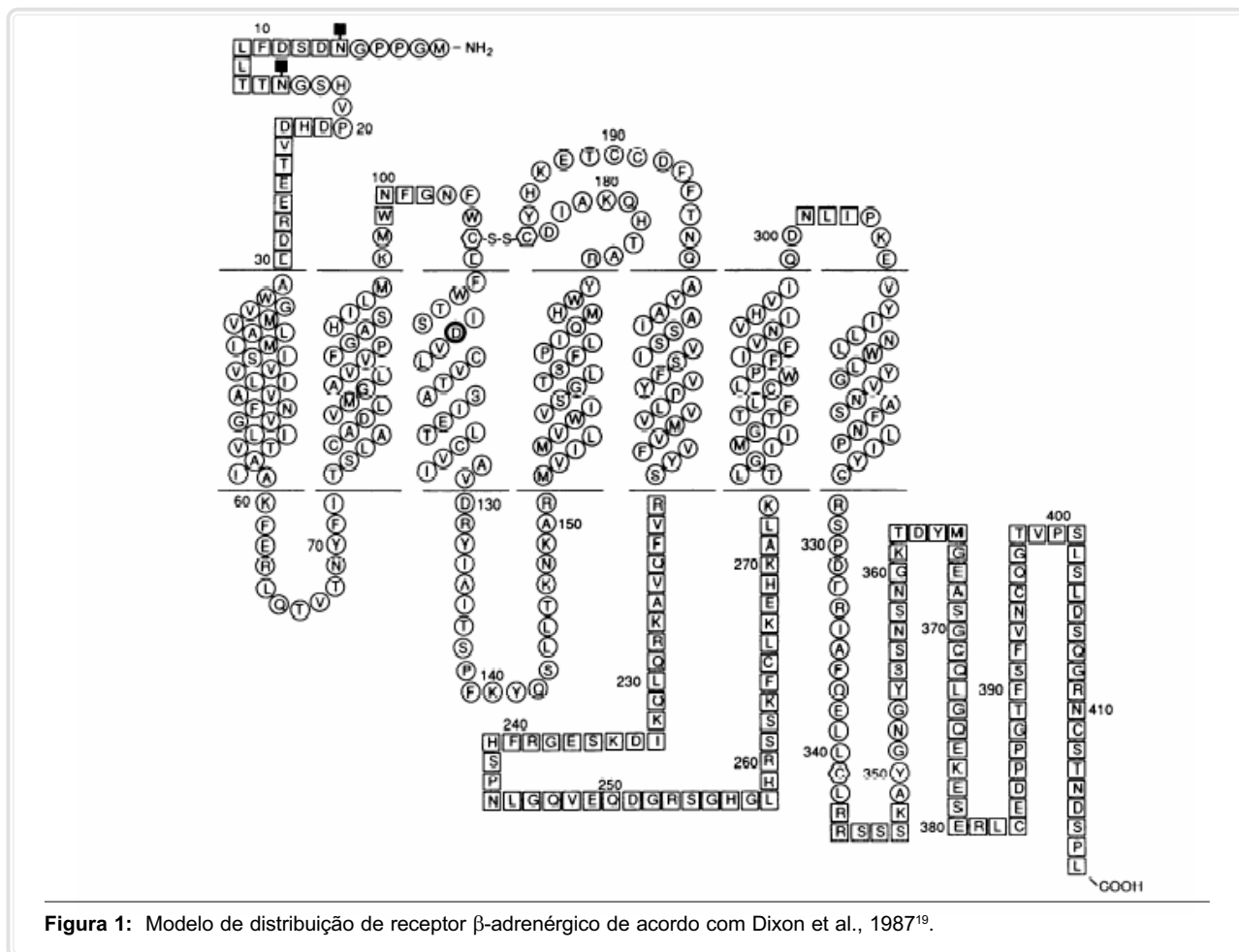
Os β -AR são ligados à proteína G_s e apresentam sete domínios transmembrana. Este modelo apresentado por Dixon et al. (1987)¹⁹, assume que cada um dos sete resíduos hidrofóbicos de aminoácidos atravessa a membrana e que a porção N-terminal do receptor é exposta na porção extracelular, enquanto a porção C-terminal é interna à membrana plasmática (Figura 1).

Os β -AR tem homologia em cerca de 60% da sequência de aminoácidos dentro dos domínios transmembrana, onde se encontra o sítio de acoplamento do ligante para os agonistas adrenalina e noradrenalina²⁰. A expressão proteica dos β -AR é regulada pela ativação ou repressão dos genes que controlam a síntese de proteínas a partir do respectivo RNA mensageiro, além de um controle por mecanismos pós-transcricionais^{21,22}.

Até há pouco tempo, acreditava-se que todos os β -AR estavam associados apenas à proteína G_s que ativa a AC, resultando na produção do AMPc. Entretanto, o acoplamento simultâneo do β -AR com mais de uma proteína G pode ser evidenciado em modelos de receptores com alta densidade de recombinação^{23,24} como o acoplamento do β_2 -AR à proteína G_i que parece desempenhar um mecanismo cardioprotetor, principalmente em pacientes com insuficiência cardíaca^{25,26}.

3- VIAS DE SINALIZAÇÃO CELULAR VIA PROTEÍNA G

A proteína G faz parte de uma família de proteínas homólogas e triméricas, consistindo de três subunidades designadas α , β e γ . Diferenças encontradas na subunidade α permitem a classificação em diferentes tipos de proteína G²⁷. Após a ativação do β -AR por agonistas, ocorre a ligação do nucleotídeo guanosina trifosfato (GTP) ao complexo $\alpha\beta\gamma$ da proteína G promovendo a dissociação do complexo α GTP da subunidade $\beta\gamma$ modulando de forma positiva ou negativa várias proteínas que podem modificar a concentração de AMPc^{28/31}.



A ativação de receptores adrenérgicos está ligada a diferentes vias de transdução de sinal e produção de segundos mensageiros, que podem levar a uma interação intracelular destas substâncias produzindo alterações na resposta celular. Isto ocorre principalmente com agonistas não-seletivos α -AR e β -AR³² ou hormônios que se ligam a diferentes receptores.

A enzima AC apresenta cerca de 9 isoformas diferentes, segundo estudos com clonagem molecular. Destas, 6 isoformas são encontradas em ratos (tipos II-VI e VIII): tipo I, em algumas áreas do cérebro; tipo II, no cérebro e pulmões e na aorta de ratos³³; tipo III, geralmente no epitélio olfatório; tipo IV, no fígado, rins e coração; tipo V, apenas no coração. As diferenças fenotípicas e funcionais encontradas no endotélio vascular de diferentes leitos vasculares pode ser explicada por diferenças nas isoformas da enzima AC. A ativação de β -AR com agonistas como a isoprenalina é capaz de produzir diferentes concentrações de AMPc e tal fato se deve à expressão de dife-

rentes isoformas da AC nos diferentes tipos de células endoteliais estudados³⁴. As isoformas III, IV, V e VI da AC são bem expressas em células endoteliais de aorta de ratos, veia cava e glândula adrenal³⁵. Por outro lado, em células endoteliais pulmonares, foram encontradas todas as isoformas pesquisadas (II-VI). Uma importante questão que se coloca a respeito das isoformas da AC é a de como estas isoformas são ativadas. Todas as isoformas podem ser ativadas pelo análogo não hidrolisável do GTP ($GTP_{\gamma S}$) ou com forscolina, ativador direto da AC³⁵. Entretanto, apenas as isoformas I, II e IV podem ser reguladas pela subunidade $\beta\gamma$ da proteína G_i . As isoformas I, III e VIII são ativadas pelo complexo Ca^{+2} -Calmodulina e a isoforma VI é inibida em baixas concentrações de Ca^{+2} e independente de calmodulina.

O AMPc pode atuar ligando-se diretamente e ativando canais iônicos na membrana plasmática. Porém, o principal mecanismo de ação do AMPc é via ativação da PKA, capaz de fosforilar inúmeros subs-

tratos^{36,37}. As várias isoformas de PKA podem estar localizadas em compartimentos intracelulares distintos. Esta enzima é organizada na forma de um tetrâmero com duas unidades regulatórias (R) e duas unidades catalíticas (C), na forma R_2C_2 . Após a ligação do AMPc nas unidades R da PKA, ocorre a dissociação das subunidades regulatórias e a ativação das subunidades catalíticas³⁸. Por outro lado, a PKA exerce uma função regulatória negativa, fosforilando e dessensibilizando o receptor responsável por sua ativação³⁹. A PKA fosforila os resíduos de serina 635, serina 1179 e treonina 497 da eNOS em baixas concentrações citoplasmáticas de Ca^{2+} em aorta bovina⁴⁰.

A duração e magnitude dos níveis de AMPc produzido pela ativação dos β -AR é altamente regulada pela ação das enzimas fosfodiesterases (PDEs) que hidrolisam o AMPc a 5'-adenosina monofosfato⁴¹. Múltiplas isoformas das PDEs são caracterizadas pela sua especificidade pelo substrato. Recentemente, foram classificadas em 5 famílias denominadas PDE I, II, III, IV e V. Destas, as PDEs I, II e III podem utilizar como substrato tanto o AMPc como o GMPc. A PDE IV tem como substrato específico o AMPc⁴². No músculo liso vascular, o AMPc é hidrolisado principalmente pela PDE III e PDE IV; o GMPc é hidrolisado pela PDE I e PDE V^{43,44}. Inibidores seletivos das PDEs I, III, IV e V promovem relaxamento do músculo liso vascular⁴⁵.

4- ATIVAÇÃO DE CANAIS IÔNICOS

A PKA fosforila proteínas regulatórias que inibem o influxo de Ca^{+2} através da membrana, aumentam o armazenamento de Ca^{+2} no retículo sarcoplasmático via Ca-ATPase e reduzem a sensibilidade do sistema contrátil ao Ca^{+2} ⁴⁶.

Tem sido demonstrada a participação de canais para K^+ como um componente importante no relaxamento de agentes que ativam a via AMPc^{47,48}. Por outro lado, existem controvérsias sobre o tipo de canal para K^+ envolvido na vasodilatação induzida por agonistas β -AR^{49,50}. Vários autores tem relacionado os canais para K^+ sensíveis a ATP (K_{ATP}) à resposta dos agonistas β -AR^{51,52,53}.

5- RECEPTORES β -AR NO ENDOTÉLIO VASCULAR

Até meados do século XX, o endotélio vascular possuía apenas relevância anatômica. Atualmente,

sabe-se que o endotélio vascular participa de inúmeras funções metabólicas e do tônus vascular. O efeito vasodilatador da acetilcolina dependente do endotélio⁵⁴, a identificação do NO como fator de relaxamento dependente do endotélio (EDRF), a prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), ainda com identidade química desconhecida deram às células endoteliais um importante papel no controle do tônus vascular.

Existem controvérsias a respeito da contribuição dos β -AR endoteliais para os efeitos vasorelaxantes de agonistas β -AR como a isoprenalina. Em aorta de ratos, o efeito da isoprenalina é descrito como totalmente dependente do endotélio⁵⁵, parcialmente dependente do endotélio^{56,57,58} ou independente do endotélio^{49, 59,60}. Esses estudos podem divergir entre si devido a vários fatores como: idade do animal⁶¹, concentração do agente usado na pré-contracção dos vasos⁵⁹ e/ou o tipo de agente usado na pré-contracção das preparações⁶².

A isoprenalina têm potência e eficácia diminuídas em presença do inibidor da eNOS, indicando que o NO modula positivamente a via β -AR com aumento da produção do AMPc⁵⁵, sugerindo que os β -AR estariam envolvidos nos mecanismos de liberação de NO. Entretanto, em aortas de ratos com endotélio, a produção de GMPc não é aumentada pela ativação de receptores β -AR com isoprenalina⁵⁶. Outros estudos propõem que o efeito relaxante do AMPc pode ser potencializado pelo GMPc devido à competição de ambos pela PDE III⁵⁸. Gray, Marshall (1992)⁵⁵ propõem que a isoprenalina aumenta tanto os níveis de AMPc como GMPc em aorta com endotélio⁶³. Assim, o efeito relaxante da isoprenalina pode ser em parte atribuído à ativação de β -AR nas células endoteliais que resultariam na síntese de NO. A ativação da eNOS é menos sensível ao Ca^{+2} em modelos de estresse por estiramento do vaso. Nestas condições, a eNOS seria dependente da ativação da proteína quinase B (PKB)⁶⁴, além da ativação da PKA com agonistas β -AR⁶⁵. De forma mais abrangente, Michell et al. (2001)⁶⁶ sugerem que a atividade da eNOS envolve uma sinalização coordenada entre várias proteínas quinases como a PKA, PKB e proteína quinase C (PKC).

A ativação da via β -AR e a conseqüente ativação da PKA levando à fosforilação de proteínas dos canais para Ca^{+2} do tipo L, resultam no influxo de Ca^{+2} em células endoteliais de aorta^{67,68}. Entretanto, em células endoteliais de alguns vasos existem pou-

cos canais para Ca^{+2} dependentes de voltagem. Assim, fenômenos como a despolarização de membrana *per se*, não seriam capazes de promover o influxo de Ca^{+2} , cujo gradiente eletroquímico ocorreria principalmente pelo vazamento passivo, mesmo nas condições de repouso⁶⁹.

Govers e Rabelink (2001)⁷⁰ identificaram receptores de inositol trifosfato IP_3 e de rianodina⁷¹ no retículo endoplasmático de células endoteliais, que são ativados via β -AR, favorecendo a ligação da PKA aos resíduos de leucina e isoleucina do receptor de rianodina e sua fosforilação estimulando a depleção dos estoques de Ca^{+2} . Tirupathi et al. (2002)⁷² demonstraram que a depleção de estoques de Ca^{+2} sensíveis ao IP_3 ativa canais para Ca^{+2} operados pelo estoque, causando o influxo de Ca^{+2} em células endoteliais da aorta. Assim, agonistas β -AR são capazes de ativar o influxo de Ca^{+2} e a liberação de Ca^{+2} de estoques intracelulares favorecendo a formação do complexo Ca^{+2} -camodulina, ativação da eNOS e conseqüente produção de NO.

A ativação de β_2 -AR e β_3 -AR e produção de AMPc pode ativar a enzima eNOS em células endoteliais de veia umbilical humana⁷³. Entretanto, a ativação de β_3 -AR é menos efetiva do que a mediada pelos subtipos β_1 e β_2 -AR⁷⁴. O nebivolol (antagonista β_1 -AR) é capaz de atuar como agonista ativando β_3 -AR no endotélio e β_2 -AR na aorta causando aumento da concentração citoplasmática de Ca^{+2} em células endoteliais⁷⁵ e vasodilatação dependente de NO^{76,77,78}. Segundo Gosgnach et al. (2001)⁷⁹, este relaxamento se deve à ativação de β_3 -AR e não à ativação de β_2 -AR.

Em animais em que há uma maior expressão dos β_3 -AR ocorre redução na expressão dos subtipos β_1 -AR e β_2 -AR⁷⁸. Terapeuticamente, a importância da manipulação genética destes animais incorre na possibilidade de caracterização das conseqüências fisiológicas desta expressão exacerbada de β_3 -AR, bem como na possibilidade do envolvimento destes receptores na gênese da hipertensão arterial. Desta forma, o endotélio pode ter uma importante função na modulação da vasodilatação via ativação de β -AR. Entretanto, muitos destes mecanismos ainda não são completamente esclarecidos.

6- RECEPTORES β -AR NAS CÉLULAS DO MÚSCULO LISO VASCULAR

Desde os estudos de Lands et al. (1967)² sabe-se que existem β -AR no músculo liso vascular (MLV)

e o subtipo predominante é o β_2 -AR, embora tenha sido demonstrada a contribuição de β_1 -AR no relaxamento vascular⁸⁰. Vários autores sugerem a participação dos receptores β -atípicos em células do MLV. Agonistas β_3 -AR possuem propriedades relaxantes *in vitro*^{15,76} e *in vitro* esses agonistas causam vasodilatação^{81,82}, sugerindo a participação de β_3 -AR. Entretanto, o relaxamento vascular promovido pela isoprenalina é devido apenas à ativação de β -AR clássicos sem a participação dos β -AR atípicos em aorta^{61,83,84}. Vários fatores estão envolvidos na regulação dos β -AR no MLV: desensibilização dependente do agonista, definida como a redução da resposta em presença do agonista⁸⁵, processo que ocorre em várias etapas e pode ser rápida (segundos ou minutos) ou longa (horas) com perda da função do receptor³⁹. A sua fosforilação promove a ligação da proteína citoplasmática β -arrestina ao receptor e isso impede o acoplamento à proteína G^{39,86}. O estímulo do agonista é rápido (em minutos) e pode promover uma internalização do receptor a um compartimento endossomal⁸⁷. Os receptores podem então ser reciclados à superfície celular ou transferidos a lisossomos e degradados⁸⁷. Em um estímulo prolongado (horas) os receptores β -AR sofrem um processo de *down-regulation*, definido como uma perda do estímulo induzido por agonistas nas células com redução de receptores⁸⁵. Tanto os receptores β_1 -AR como os receptores β_2 -AR podem sofrer esses processos de desensibilização. Entretanto, esse fenômeno é mais significativo com receptores β_2 -AR⁸⁸. O processo de *down-regulation* de β_2 -AR é mediado por duas vias distintas: o AMPc pode reduzir o número de receptores β_2 -AR pela fosforilação via PKA na porção carboxil terminal, com diminuição da estabilidade do receptor na membrana levando à sua degradação³². Outros mecanismos envolvem redução de receptores mediada pelo AMPc, nos níveis de RNAm do β_2 -AR e diminuição do número de receptores³². *In vivo*, o processo de desensibilização de β -AR tem sido descrito em aorta e veia porta⁸⁹ e em artéria mesentérica⁹⁰.

O principal mecanismo de ação do AMPc no relaxamento do músculo liso vascular é pela fosforilação via PKA, da quinase da cadeia leve da miosina levando à sua menor afinidade pela calmodulina^{91,92}. Além disso, o AMPc pode reduzir a concentração citoplasmática de Ca^{+2} por diminuir o influxo de Ca^{+2} no MLV⁹³ e/ou ativar canais para K^+ levando à hiperpolarização de membrana e redução do influxo de Ca^{+2} via canais dependentes de voltagem⁹⁴. De

acordo com estes autores, os seguintes mecanismos podem ocorrer durante o relaxamento do MLV induzido pelo AMPc: a) hiperpolarização da membrana pela ativação de canais para K_{Ca} e inativação de canais de Ca^{+2} dependente de voltagem do tipo L; b) inibição da liberação de Ca^{+2} de estoques intracelulares; c) redução da fosforilação da cadeia leve da miosina; d) aumento do efluxo de Ca^{+2} . Além disso, o relaxamento do MLV pelo AMPc pode ser mediado pela proteína quinase dependente de GMPc, a PKG^{95,96}. Embora a PKG seja ativada pelo aumento de GMPc, altas concentrações de AMPc no meio intracelular também podem ativar essa enzima³⁸. Assim, o relaxamento do MLV pode também ser devido à fosforilação via PKG e ativação de proteínas que atuam na homeostasia intracelular do Ca^{+2} ⁹⁷, incluindo a Ca^{+2} -ATPase da membrana plasmática e o trocador Na^{+}/Ca^{+2} ⁹⁶.

7- AGONISTAS β -ADRENÉRGICOS

Na década de 40, a isoprenalina foi desenvolvida como fármaco, o que trouxe importantes avanços pelo fato de ser agonista β -seletivo, porém sem discriminar os subtipos de β -AR⁹⁸. Outros agonistas, como os β_1 -seletivos foram desenvolvidos: denopamina, xamoterol, T0509⁹⁹. O desenvolvimento de agonistas seletivos para β_2 -AR como a terbutalina e o salbutamol abriu a possibilidade do seu uso como drogas broncodilatadoras mais adequadas, representando grande avanço no tratamento de asma brônquica, reduzindo significativamente os efeitos indesejáveis da ativação de β_1 -AR (taquicardia e tremor da musculatura esquelética). Posteriormente, foram sintetizados outros agonistas β_2 -adrenérgicos: formoterol, salmeterol e fenoterol³.

O desenvolvimento de agonistas β_3 -adrenérgicos como BRL-37344, CGP 12177 e CL 316243 abriram novas perspectivas no tratamento da hipertensão arterial por produzir relaxamento vascular periférico. A ativação de β_3 -AR na célula endotelial ativa simultaneamente a enzima fosfolipase A_2 causando uma superprodução de prostaciclina, ativação da AC e aumento de AMPc sem alterações na concentração in-

tracelular de Ca^{+2} , sendo este, um possível mecanismo independente de Ca^{+2} . Assim, de acordo com Gosgnach et al. (2001)⁷⁹, o relaxamento induzido pela ativação de β_3 -AR envolve tanto a via NO-GMPc quanto a produção de prostaciclina.

8- ANTAGONISTAS β -ADRENÉRGICOS

Os antagonistas β -AR têm merecido especial atenção devido à sua eficácia no tratamento da hipertensão, certas arritmias cardíacas e isquemia cardíaca. O propranolol, desenvolvido na década de 60⁹⁹, é um β -bloqueador competitivo não seletivo com afinidade pelos β_1 -AR e β_2 -AR, tendo como vantagem clínica o fato de não apresentar ação agonista parcial. Vários antagonistas β -AR mais seletivos foram desenvolvidos a partir do propranolol. O nebivolol, um antagonista β_1 -adrenérgico é altamente seletivo e produz vasodilatação periférica pela produção endógena de NO¹⁰⁰, sendo porém, bloqueado pelo antagonista β_3 -adrenérgico seletivo, bupranolol. De acordo com Bowman et al. (1994)¹⁰¹ concentrações de nebivolol no plasma são maiores do que aquelas que atingem as células endoteliais após administração por via oral, em humanos. Os autores sugerem que talvez os metabólitos do nebivolol sejam mais potentes que a droga *per se*. O fato do nebivolol associar o efeito antagonista β_1 -AR e agonista β_3 -AR como vasodilatador, seria muito importante em termos terapêuticos no tratamento da hipertensão arterial.

Os antagonistas são importantes ferramentas farmacológicas no estudo do mecanismo de ação de vários agonistas. A busca por antagonistas seletivos resultou na síntese de vários compostos com essa atividade como: atenolol, bisoprolol, betaxolol, practolol, metoprolol¹⁰² e CGP20712A (β_1 -AR), ICI 118551 (β_2 -AR), SR59230A e (β_3 -AR), bupranolol e CGP20712A (β_4 -AR)^{103,104}.

Auxílio Financeiro: FAPESP e CNPq. M.A.N. e R.R.R. são bolsistas de doutoramento da FAPESP junto ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

Neto MA, Rascado RR, Bendhack LM. β -adrenoceptors function in the cardiovascular system. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2006; 39 (1): 3-12.

Abstract: β -adrenoceptors (β -AR) are classified as classic β -AR (β_1 , β_2) and atypical β -AR (β_3 , β_4). β -AR are coupled to G protein and enzymes such as adenylyl-cyclase and protein kinase-A (PKA) that is activated by 3'-5'-adenosine-monophosphate (cAMP). This β -AR-enzymes complex can directly bind to ionic channels in the membrane, but the main mechanism of action induced by cAMP is the phosphorylation of several proteins via the action of PKA. The activation of β -AR in the endothelial cells increases the Ca^{+2} cytosolic levels that facilitate Ca^{+2} binding to calmodulin activating endothelial nitric oxide synthase and the production of nitric oxide. The main mechanism of cAMP in inducing vascular smooth muscle relaxation is due to the phosphorylation via PKA that decreases the cytosolic Ca^{+2} concentration by several mechanisms that lowers its affinity for calmodulin. Major β -AR agonists are classified as nonselective β -AR (isoprenaline), selective β_1 -AR (xamoterol) and β_2 -AR (terbutaline, salbutamol). Several β -AR agonists have been used in clinical situations but they play their main role in the treatment of the patients with asthma or as cardiac stimulant. The development of novel compounds β_3 -AR agonists as BRL-37344, CGP-12177 and CL-316243 open new perspectives for the treatment of hypertension. Considerable interest has focused on the development of β -AR antagonists due to their efficacy on the treatment of hypertension, cardiac arrhythmias and angina. Efforts for more selective β -AR antagonists have resulted in the synthesis of several compounds as atenolol, bisoprolol, betaxolol, practolol and CFP20712A (β_1 -AR), ICI 118551 (β_2 -AR), SR59230A (β_3 -AR), bupranolol and CGP20712A (β_4 -AR).

Keywords: β -Adrenoreceptors. cAMP. cGMP. Vasodilation. Endothelium, Vascular.

REFERÊNCIAS

- 1 - Alquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 1948; 153: 586-600.
- 2 - Lands AM, Arnold A, Mcauliff JP, Luduena FP, Brown TG Jr. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 1967; 214: 597-8.
- 3 - Emorine LJ, Marullo S, Briend-Sutren MM, Patey G, Tate K, Delavier-Klutchko C, Strosberg AD. Molecular characterization of the human β_3 -adrenergic receptor. *Science* 1989;245: 1118-21.
- 4 - Granneman JG, Lahners KN, Chaudhry A. Characterization of the humans β_3 -adrenergic receptor gene. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 264-70.
- 5 - Kaumann AJ. Is there a third heart β -adrenoceptor? *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 316-20.
- 6 - Arch JRS, Kaumann AJ. β_3 - and atypical β -adrenoceptors. *Med Res Rev* 1993;13: 663-729.
- 7 - Kaumann AJ. Four β -adrenoceptor subtypes in the mammalian heart. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18: 70-6.
- 8 - Malinowska B, Schlicker E. Mediation of the positive chronotropic effect of CGP 12177 and cyanopindolol in the pithed rat by atypical β -adrenoceptors, different from β_3 -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1996;117: 943-9.
- 9 - Kaumann AJ, Engelhardt S, Hein L, Molenaar P, Lohse M. Abolition of (-)-CGP 12177-evoked cardiostimulation in double β_1 -/ β_2 - adrenoceptor knockout mice. Obligatory role of β_1 -adrenoceptors for putative β_4 -adrenoceptor pharmacology. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1996;363: 87-93.
- 10 - Galitzky J, Langin D, Verwaerde P, Montastruc JL, Lafontan M, Berlan M. Lipolytic effects of conventional β_3 -adrenoceptor agonists and of CGP 12177 in rat and human fat cells: preliminary pharmacological evidence for a putative β_4 -adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 1244-50.
- 11 - Lafontan M. Differential recruitment and differential regulation by physiological amines of fat cell β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenergic receptors expressed in native fat cells and in transfected cell lines. *Cell Signal* 1994; 4: 363-92.
- 12 - Manara L, Croci T, Landi M. β_3 -adrenoceptors and intestinal motility. *Fundam Clin Pharmacol* 1995;9: 332-42.
- 13 - Martin CAE, Advenier C. Beta 3-adrenoceptors and airways. *Fundam Clin Pharmacol* 1995; 9: 114-8.
- 14 - Gauthier C, Tavernier G, Charpentier F, Langin D, Le Marec H. Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest* 1996;98: 556-62.
- 15 - Trochu JN, Leblais V, Rautureau Y, Bévèrelli F, Le Marec H, Berdeaux A, Gauthier C. Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 69-76.
- 16 - Kaumann AJ, Lynham JA. Stimulation of cyclic AMP-dependent protein kinase in rat atria by (-)-CGP 12177 through an atypical β -adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 1997;120: 1187-9.
- 17 - Arch JRS. β_3 -adrenoceptor agonists: potential, pitfalls and progress. *Eur J Pharmacol* 2002; 440: 99-107.
- 18 - Schwartz DD, Jones WG, Hedden KP, Clark TP. Molecular and pharmacological characterization of the canine brainstem α_{2A} -adrenergic receptor. *J Vet Pharmacol Ther* 1999; 22: 380-6.

- 19 - Dixon RAF, Irving SS, Candelore MR, Register RB, Scattergood W, Rands E, Strader CD. Structural features required for ligand binding to the β -adrenergic receptor. *EMBO J* 1987;6: 3269-75.
- 20 - Strader CD, Fong TM, Underwood D, Dixon RA. Structure and function of G protein-coupled receptors. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 101-32.
- 21 - Hadcock JR, Malbon CC. Down-regulation of β -adrenergic receptors: agonist induced reduction in receptor mRNA levels. *Proc Nat Acad Sci USA* 1988; 85: 5021-5.
- 22 - Hadcock JR, Malbon CC. Regulation of receptor expression by agonists: transcriptional and post-transcriptional controls. *Trends Neurosci* 1991; 24: 242-7.
- 23 - Eason MG, Kurose H, Holt BD, Raymond JR, Liggett SB. Simultaneous coupling of β_2 -adrenergic receptors to two G-protein with opposing effects. *J Biol Chem* 1992; 267: 15795-801.
- 24 - Kenakin T. Agonist-receptor efficacy I: mechanisms of efficacy and receptor promiscuity. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 188-92.
- 25 - Xiao RP. Cell log IC for dual coupling of a single class of receptors to Gs and Gi proteins. *Circ Res* 2000; 7: 635-7.
- 26 - Santos IN, Sumitami M, Caceres VM, Moreira MF, Krieger MH, Spadari-Bratfisch RC. Evidence for two atypical conformations of beta-adrenoceptors and their interaction with Gi proteins. *Eur J Pharmacol* 2005; 513(1/2): 109-18.
- 27 - Guderman T, Schoneberg T, Schultz G. Functional and structural complexity of signal transduction via G-protein-coupled receptors. *Annu Rev Neurosci* 1997; 20: 399-427.
- 28 - Northup JK, Smigel MD, Sternwies PC, Gilman AG. The subunits of the stimulatory regulatory component of the adenylyl cyclase: resolution of activated 45,000 dalton (alpha) subunit. *J Biol Chem* 1983; 258: 11369-76.
- 29 - Birnbaumer L. Receptor to effector signaling through G proteins: role for $\beta\gamma$ -dimers as well as α subunits. *Cell* 1992; 71: 1069-72.
- 30 - Clapham DE, Neer EJ. New roles for G protein $\beta\gamma$ -dimers in transmembrana signaling. *Nature* 1993; 365: 403-6.
- 31 - Clapham DE, Neer EJ. G-protein $\beta\gamma$ subunits. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 167-203.
- 32 - Bouvier M. Cross-talk between second messengers. *Ann NY Acad Sci* 1990;594: 120-9.
- 33 - Zhang JF, Randal AD, Ellinor RT, Horne WA, Sather WA, Tanabe T, Schwarz TL, Tisien RW. Ca^{2+} channels and their possible counterparts in mammalian CNS neurons. *Neuropharmacol* 1993;32: 1075-88.
- 34 - Manolopoulos VG, Liu J, Unsworth BR, Lelkes PI. Adenylyl cyclase isoforms are differentially expressed in primary cultures of endothelial cells and whole tissue homogenates from various rat tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208: 323-31.
- 35 - Manolopoulos VG, Samet MM, Lelkes PI. Regulation of the adenylyl cyclase signaling system in various types of cultured endothelial cells. *J Cell Biochem* 1995; 57: 590-8.
- 36 - Walsh DA, Van Patten SM. Multiple pathway signal transduction by the cAMP-dependent protein kinase. *FASEB J* 1994; 8(15): 1227-36.
- 37 - Hanks SK, Hunter T. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification. *FASEB J* 1995; 9: 576-96.
- 38 - Francis SH, Corbin JD. Structure and function of cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *Annu Rev Physiol* 1994; 56: 237-72.
- 39 - Hausdorff WP, Caron MG, Lefkowitz RJ. Turning off the signal: desensitization of β -adrenergic receptor function. *FASEB J* 1990;4: 2881-9.
- 40 - Boo YC, Sorescu GP, Bauer PM, Fulton D, Kemp BE, Harrison DG, Sessa WC, Jô H. Endothelial NO synthase phosphorylated at SER⁶³⁵ produces NO without requiring intracellular calcium increase. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 729-41.
- 41 - Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995-1996; 75: 725-48.
- 42 - Beavo JA, Reifsnnyder DH. Primary sequence of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes and the design of selective inhibitors. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 150-5.
- 43 - Polson JB, Strada SJ. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996;36: 403-27.
- 44 - Houslay MD, Milligan G. Tailoring cAMP-signalling responses through isoform multiplicity. *Trends Biochem Sci* 1997. 22: 217-24.
- 45 - Nicholson CD, CHALLIS RAJ, SHAHILD M. Differential modulation of tissue function and therapeutic potential of selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12: 19-27.
- 46 - Werstki ES, Lee RM. Vascular beta-adrenoceptor function in hypertension and in ageing. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78: 433-52.
- 47 - Allen SL, Beech DJ, Foster RW, Morgan GP, Small RC. Electrophysiological and other aspects of the relaxant action of isoprenaline in guinea-pig isolated trachealis. *Br J Pharmacol* 1985; 86: 843-54.
- 48 - Ousterhout JM, Sperelakis N. Cyclic nucleotides depress action potentials in cultured aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1987;144: 7-14.
- 49 - Satake N, Shibata M, Shibata S. The inhibitory effects of iberiotoxin and 4-aminopyridine on the relaxation induced by β_1 - and β_2 -adrenoceptor activation in rat aortic rings. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 505-10.
- 50 - Huang Y, Kwok KH. Beta-adrenoceptor-mediated relaxation inhibited by tetrapentylammonium ions in rat mesenteric artery. *Life Sci* 1998; 62: 19-25.
- 51 - Myoshi H, Nakaya Y. Activation of ATP-sensitive K1-channels by cyclic AMP-dependent protein kinase in cultured smooth muscle cells of porcine coronary artery. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 240-7.
- 52 - Nakashima M, Vanhoutte PM. Isoproterenol causes hyperpolarization through opening of ATP-sensitive potassium channels in vascular smooth muscle of the canine saphenous vein. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 72: 379-84.
- 53 - Callera GE, Yeh E, Tostes RCA, Caperuto LC, Carvalho CRO, Bendhack LM. Changes in the vascular β -adrenoceptor-activated signaling pathway in 2 kidney-1clip hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 1153-60.

- 54 - Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288: 373-6.
- 55 - Gray DW, Marshall I. Novel signal transduction pathway mediating endothelium-dependent of beta-adrenoceptor vasorelaxation in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 684-90.
- 56 - Grace GC, McDonald OS, Dusting GJ. Cyclic nucleotide interaction involved in endothelium-dependent dilatation in rat aortic rings. *Eur J Pharmacol* 1988;148: 17-24.
- 57 - Kamata K, Miyata N, Kasuya Y. Involvement of endothelial cells in relaxation and contraction responses of the aorta to isoproterenol in naive and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249:890-4.
- 58 - Delpy E, Coste H, Le Monnier DE, Gouville AC. Effect of cyclic GMP elevation on isoprenaline-induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle: role of phosphodiesterase 3. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 471-8.
- 59 - Moncada S, Rees DD, Schulz R, Palmer RMJ. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 2166-70.
- 60 - Eckly-Michel A, Martin Av, Lugnier C. Isoprenaline induces endothelium-independent relaxation and accumulation of cyclic nucleotides in rat aorta. *Eur J Pharmacol* 1994; 271: 237-40.
- 61 - Arribas S, Marin J, Ponte A, Balfagon G, Salaiques M. Norepinephrine-induced relaxations in rat aorta mediated by endothelial beta adrenoceptors: impairment by ageing and hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;270:520-7.
- 62 - Rascado RR, Bendhack LM. Activation of α_2 -adrenoceptors is necessary to induce nitric oxide release in isoprenaline-induced relaxation. *Vasc Pharmacol* 2005; 42:63-8.
- 63 - Iranami H, Hatano Y, Tsukiyama Y, Maeda H, Mizumoto KA. Beta-adrenoceptor agonist evokes a nitric oxide-cGMP relaxation mechanism modulated by adenylyl cyclase in rat aorta. *Anesthesiology* 1996; 85:1229-38.
- 64 - Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeithor AM. Activation of nitric synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999; 399: 601-5.
- 65 - Boo YC, Sorescu G, Body N, Shiojima I, Walsk K, Du J, Jo H. Shear stress stimulates phosphorylation of eNOS at Ser(635) by a protein kinase A-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(5): H1819-28.
- 66 - Michell BJ, Chen Z, Tiganis T, Stapleton D, Katsis F, Power DA, SIMI AT, Kemp BE. Coordinated control of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 17625-8.
- 67 - Hartzell HC. Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine and second messenger systems. *Prog Biophys Mol Biol* 1988; 52:165-247.
- 68 - Pelzer D, Pelzer S, Mcdonald TF. Properties and regulation of calcium channels in muscle cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990;114: 107-207.
- 69 - Seiden JE, Platoshyn O, Bakst AE, Mcdaniel SS, Yuan JXJ. High K⁺ induced membrane depolarization attenuates endothelium-dependent pulmonary vasodilatation. *Am J Physiol* 2000;278: L261-7.
- 70 - Govers R, Rabelink T. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol* 2001;280: F193-F206.
- 71 - Kohler R, Brakemeier S, Kuhn M, Degenhardt C, Buhr H, Pries A, Hoyer J. Expression of ryanodine receptor type 3 and TRP channels in endothelial cells: comparison of in situ and cultured human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2001; 51: 160-8.
- 72 - Tirupathi C, Minshall RD, Paria BC, Vogel SM, Malik AB. Role of calcium signaling in the regulation of endothelial permeability. *Vasc Pharmacol* 2002;39(4/5): 173-85.
- 73 - Ferro A, Queen LR, Priest RM, Xu B, Ritter JM, Poston L, Ward JPT. Activation of nitric oxide synthase by β_2 -adrenoceptors in human umbilical vein endothelium in vitro. *Br J Pharmacol* 1999;126: 1872-80.
- 74 - Brawley L, Shaw AM, Mcdonald A. Beta 1-, beta 2- and atypical beta-adrenoceptor-mediated relaxation in rat isolated aorta. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 637-44.
- 75 - Broeders MA, Doevendans PA, Bekkers BC. Nebivolol: a third-generation beta-blocker that augments vascular nitric oxide release: endothelial beta(2)-adrenergic receptor-mediated nitric oxide production. *Circulation* 2000; 102: 677-84.
- 76 - Groot AA, Mathy M-J, van Zwieten PA, PETERS SLM. Involvement of the β_3 -adrenoceptor in nebivolol-induced vasorelaxation in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 232-6.
- 77 - Rautureau Y, Toumaniantz G, Serpillon S, Jourdon P, Trochu JN, Gauthier C. Beta 3-adrenoceptor in rat aorta: molecular and biochemical characterization and signalling pathway. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 153-61.
- 78 - Toumaniantz G, Seze C, Serpillon S, Menoret S, Tesson L, Anegone I, Gauthier C. Vascular beta-adrenergic remodeling in rat transgenic model over-expressing endothelial beta 3-adrenoceptors. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005;98(7/8): 836-40.
- 79 - Gosgnach W, Boixel C, Nevo N. Nebivolol induces calcium-independent signaling in endothelial cells by a possible beta-adrenergic pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38: 191-9.
- 80 - O'Donnell SR, Wanstall JC. Beta-1 and Beta-2 adrenoceptor mediated responses in preparations of pulmonary artery and aorta from young and aged rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;228: 733-8.
- 81 - Tavernier G, Galitzky J, Bousquet-Melou A, Montastruc JI, Berlan M. The positive chronotropic effect induced by BRL 37344 and CGP 12177, two beta-3 adrenergic agonists, does not involve cardiac beta adrenoceptors but baroreflex mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;263: 1083-90.
- 82 - Rohrer DK, Chruscinski A, Schauble EH, Bernstein D, Kobilka BK. Cardiovascular and metabolic alterations in mice lacking both beta1- and beta2-adrenergic receptors. *J Biol Chem* 1999;274: 16701-8.
- 83 - Brahmawara N, Shaw AM, MacDonald A. Evidence against β_3 -adrenoceptors or low affinity state of β_1 -adrenoceptors mediating relaxation in rat isolated aorta. *Br J Pharmacol* 2003;138: 99-106.
- 84 - Brahmawara N, Shaw AM, MacDonald A. α_1 -Adrenoceptor antagonist properties of CGP 12177A and other β -adrenoceptor ligands: evidence against β_3 - or atypical β -adrenoceptors in rat aorta. *Br J Pharmacol* 2004; 142: 781-7.

- 85 - Collins S, Caron MG, Lefkowitz RJ. Regulation of adrenergic receptor responsiveness through modulation of receptor gene expression. *Annu Rev Physiol* 1991;53: 497-508.
- 86 - Ferguson SSG, Downey WE, Colapietro AM, Barak LS, Ménard L, Caron MG. Role of β -arrestin in mediating agonist-promoted G protein-coupled receptor internalization. *Science* 1996;271: 363-6.
- 87 - Koenig JA, Edwardson JM. Endocytosis and recycling of G protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18: 276-87.
- 88 - Suzuki T, Nguyen CT, Nantel F, Bonin H, Valiquette M, Frielle T, Bouvier, M. Distinct regulation of β_1 - and β_2 -adrenergic receptors in Chinese hamster fibroblasts. *Mol Pharmacol* 1992;41: 542-8.
- 89 - Hayes JS, Wyss VL, Schenck KS, Cohen ML. Effects of prolonged isoproterenol infusion on cardiac and vascular responses to adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;237: 757-63.
- 90 - Tsujimoto G, Hoffman BB. Desensitization of beta-adrenergic receptor-mediated vascular smooth muscle relaxation. *Mol Pharmacol* 1985;7: 210-7.
- 91 - Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature* 1994; 372: 231-6.
- 92 - McDaniel NL, Rembold CM, Richard HM, Murphy RA. Cyclic AMP relaxes swine arterial smooth muscle predominantly by decreasing cell Ca^{2+} concentration. *J Physiol* 1991;439: 147-60.
- 93 - Chen XL, Rembold CM. Cyclic nucleotide-dependent regulation of Mn^{2+} influx, $[Ca^{2+}]_i$, and arterial smooth muscle relaxation. *Am J Physiol* 1992; 263: C468-73.
- 94 - Lincoln TM, Cornwell TL, Taylor AE. cGMP-dependent protein kinase mediates the reduction of Ca^{2+} by cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1990; 258: C399-C407.
- 95 - Rembold CM, Chen XL. Mechanisms responsible for forskolin-induced relaxation of rat tail artery. *Hypertension* 1998; 31: 872-7.
- 96 - Lohmann SM, Vaandrager AB, Smolenski A, Walter U, De Jonge HR. Distinct and specific functions of cGMP-dependent protein kinases. *Trends Biochem Sci* 1997;22: 307-12.
- 97 - Bawman AJ, Chen CP, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38: 199-204.
- 98 - Abana H, Watanabe H, Narita H, Nagao T. Selective and full β_1 -adrenoceptor agonist action of a catechol derivative of denopamine (T-0509) in the guinea-pig cardiac muscle and trachea: comparison with denopamine, xamoterol and isoprenaline. *Br J Pharmacol* 1992;106: 335-41.
- 99 - Black JW, Stephenson JS. Pharmacology of a new adrenergic beta-receptor blocking compounds. *Lancet* 1962;2: 311-4.
- 100 - Pauwels PJ, Gommeren W, Van Lommen G, Janssen PA, Leysen JE. The receptor binding profile of the new antihypertensive agent nebivolol and its stereoisomers compared with various beta-adrenergic blockers. *Mol Pharmacol* 1988; 34: 843-51.
- 101 - Bowman AJ, Chen CP, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 38: 199-204.
- 102 - Prakash A, Markham A. Metoprolol: a review of its use in chronic heart failure. *Drugs* 2000;60: 647-78.
- 103 - Nakada MT, Haskell KM, Ecker DJ, Stadel JM, Croke ST. Genetic regulation of β_2 -adrenergic receptors in 3T3-L1 fibroblasts. *Biochem J* 1989;260: 53-9.
- 104 - Machida CA, Bunzow JR, Searles RP, Can Tol H, Testes B, Neve KA, Teal P, Nipper V, Civelli G. Molecular cloning expression of the rat beta 1-adrenergic receptor gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 12960-5.