

β 2-Selektif Adrenerjik Reseptör Blokeri ICI-118, 551 Kesilme Sendromunun İzole Sıçan Kalp ve Aort Dokusunda Araştırılması

Uz. Dr. İ. Nuri KALYONCU, Doç. Dr. M. Nejat GACAR, Uz. Dr. Şule GÖK*,
Prof. Dr. Baki KOMSUOĞLU, Dr. H. Ali MOLLAOĞLU, Dr. Özlem UĞURBAŞ,
Dr. Nursel SİVRİKAYA

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, *Kardiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

ÖZET

Bu çalışmada β 2-selektif adrenerjik reseptör blokeri olan ICI-118, 551'in 21 günlük kullanımı sonrası ani kesilmesinin izole sıçan kalbinin adrenaline kronotropik, inotropik yanıtları ile izole sıçan aortunun adrenaline gevşeme yanıtları ilacın son dozundan 24, 48, 72, 96 saat sonra incelendi. Bu amaçla 15'i kontrol grubu olmak üzere, toplam 47 adet sıçan kullanıldı. İzole sıçan kalbinde ilacın ani kesilmesinin adrenaline kronotropik yanıtlarda 48. saatte anlamlı artışa neden olduğu, inotropik yanıtlarda ise farklılık yaratmadığı ve izole sıçan aortunun gevşeme yanıtlarını etkilemediği sonucuna varıldı.

Sonuçta ICI-118, 551'le tedavinin ve ani kesilmesinin damar yatağı ve miyokard kontraktilesinde herhangi bir olumsuz etkileşime neden olmadığı, ancak ani kesilmeden 48 saat sonra endojen adrenerjik agonistlere kronotropik yanıtlarda süpersensitivite gelişebileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: ICI-118, 551, beta adrenerjik reseptör, sıçan

Kalp dokusunda β 2-adrenerjik reseptörlerin (β 1-AR) yanısıra β 2-adrenerjik reseptör (β 2-AR) tiplerinin de varlığı fonksiyonel farmakolojik ve radyoligand çalışmalarla ortaya konmuştur⁽¹⁾. Bulunma oranı türe göre değişmekle birlikte β 2-AR'lerin fonksiyonel olduğu ve endojen katekolaminlerin pozitif inotropik ve kronotropik etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir (2-11).

Diğer taraftan intrinsek semptomimetik etkinliği (İSE) olmayan b-adrenerjik reseptör (β -AR) blokerleri ile uzun süreli tedavinin hücrelerde β -AR yo-

ğunluğunda ve duyarlılığında bir artışa neden olduğu bilinmektedir^(1,12-16). İSE'si olmayan non-selektif ve β 1-selektif β -AR blokerleriyle uzun süreli tedavinin ani kesilmesinin ciddi kardiyovasküler komplikasyonlara yol açtığı deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir^(12,17-19). Bu komplikasyonlar ilacın son dozundan sonraki 24 saat ile bir haftalık süre içinde gözlemlenmiştir.

Klinik kullanımına hazırlanan İSE'si olmayan yeni bir selektif β 2-AR blokeri olan ICI-118, 551 [Eritro (\pm) (a-metilindan 4-iloksil)-3-izopropil aminobütan 2-ol]'in uzun süreli kullanımını takiben ani kesilmesinin kardiyovasküler komplikasyonlara yol açıp açmadığı konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır⁽²⁰⁻²¹⁾. Biz çalışmamızda ICI-118, 551 ile uzun süreli (21 gün) düzenli tedavi görmüş sağlıklı sıçanların ilacın son dozundan 24, 48, 72 ve 96 saat sonrası izole kalplerinin adrenaline kronotropik ve inotropik yanıtları ile aynı sıçanların izole torasik aortlarının adrenaline gevşeme yanıtlarını inceledik.

MATERYEL ve METOD

Bu çalışma her iki cinsten "Swiss Albino", ağırlıkları 230-340 gram olan 47 adet sıçan üzerinde yapılmıştır. Sıçanlar normal laboratuvar şartlarında tutulmuş, herhangi bir özel diyet uygulaması ve içme suyu kısıtlaması yapılmamıştır. Sıçanların 15'i kontrol grubunu oluştururken, 10 sıçan 24 saat, 8'i 48 saat, 8'i 72 saat ve 6'sı 96 saatlik parametreler için çalışılmıştır.

Deney protokolü: Sıçanlar kontrol grubu (n=15) ve ICI-118, 551 ile tedavi grubu (n=32) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki 15 deneğe ilaç uygulanacak grupla aynı hacimde ve aynı zaman dilimi içerisinde serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. ICI-118, 551 tedavisi alan gruptaki 32 deneğe 21 gün süreyle günlük total doz 2 mg/kg olacak şekilde 12 saat arayla int-

peritoneal tedavi uygulandı. 21'inci günün sonunda ilaç uygulamasına son verildi. Son dozdan 24, 48, 72 ve 96 saat sonra sıçanlar deneye alındı. Kontrol grubundaki sıçanlar da aynı süreler içinde çalışıldı.

Kalp izolasyonu: Deneye alınacak sıçanlara anestezi den önce 500 U heparin intraperitoneal uygulandı. Anestezi için Na-pentobarbital 50 mg/kg dozunda intraperitoneal uygulandı. Toraks açılarak kalp çevre dokulardan temizlendikten sonra hızla çıkarıldı, buzlu Krebs solüsyonu içerisindeki aort kanüle edilerek Langendorf tekniği uygun şekilde perfüze edildi. Perfüzyon sıvısı için Krebs-Henseleit (mM/l): NaCl 126.74, NaHCO₃ 29.99, NaH₂PO₄ 1.15, KCl 5.53, CaCl₂ 2.51, MgSO₄ 1.21, Glukoz 20.18 solüsyonu kullanıldı. Solüsyon 37° C'da %5 CO₂, %95 O₂ gaz karışımı ile gazlandırıldı.

Kalbin mekanik kontraksiyonları; apekten geçirilen ince ipek iplik ve bir pulley yardımıyla bir gramlık gerilim altında güç transduserine (Force Transduser TB-612-T Nihon Kohden) bağlandı. Kontraksiyonlar Nihon Kohden 4 kanallı poligrafa yazdırıldı. Kalp atım sayısı ise kalp üzerine uygun şekilde yerleştirilmiş platin iğne elektrodlar aracılığıyla 4 kanallı Nihon Kohden poligrafın yazdırıcısına kaydedildi. Bütün deneylerde, perfüzyon sıvısı 10⁻⁵ M rezerpin, 10⁻⁵ M hidrokortizon ve 10⁻⁵ M prazosin içerecek şekilde hazırlandı. Bu ilaçlar sırasıyla "uptake1", "uptake2" ve a-adenoreseptörleri bloke etmek amacıyla uygulandı. Adrenalin izole kalp üzerine 10⁻⁷ M konsantrasyondan başlayarak artan dozlarda 10⁻³ M konsantrasyona dek aort kanülünün içinden uygulandı.

Aort izolasyonu: Kalp izolasyonunu takiben torasik aorta çıkarılıp çevre dokulardan temizlendikten sonra 2 mm genişliğinde 3 cm uzunluğunda stripler haline getirildi. Aort stripleri Krebs (mM/l): NaCl 120, NaHCO₃ 24.99, NaH₂PO₄ 1.35, KCl 5.53, CaCl₂ 2.49, MgCl₂ 0.49, Dekstroz 12.65 solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyolarına yerleştirildi. İki ucu ipek ipliklerle bağlı striplerin bir ucu banyo tabanına sabitlenirken diğer ucu 1 gram istirahat gerilimi altında Nihon Kohden Force Transduser TB-612-T'ye bağlandı. 120-160 dakikalık istirahat periyodundan sonra doku yanıtları 4 kanallı Nihon Kohden poligrafa kaydedildi. Bütün deneylerde kullanılan Krebs solüsyonu 10⁻⁵ M rezerpin, 10⁻⁵ M hidrokortizon ve 10⁻⁵ M prazosin içerecek şekilde hazırlandı. İzole aort stripleri referans kasıcı bir ajanla (0.1 M BaCl₂ ile) maksimum kasılmayı elde etmek üzere kasıldı. Adrenalin banyo ortamına 10⁻⁷ M'dan başlayarak 10⁻³ M'a dek kümülatif dozlarda uygulananak gevşeme yanıtları kaydedildi.

Kalp için, adrenaline kronotropik, inotropik yanıtlarda elde edilen maksimum değere göre tüm yanıtlar maksimum etkinin yüzdesi şeklinde konsantrasyon-yanıt eğrilerine dönüştürüldü. Aort içinse, referans kasıcı ajanla kasılmış aortun adrenalin tarafından ne derece gevşetilebildiği yine aynı şekilde değerlendirildi. Bu konsantrasyon-yanıt eğrileri kullanılarak lineer regresyon yöntemiyle maksimum etkinin %50'si kadar etki oluşturan ilaç molar konsantrasyonunun "log" sı (=pD₂) hesaplandı.

Biyoistatistiksel analizler: Deneklerden elde edilen sayısal değerler ortalaması±standart hata olarak değerlendirildi.

dirmeye alındı. Ortalamalar arası önem kontrolü Student t testine göre yapıldı. Yanılma olasılığı 0.05 olarak seçildi.

Kullanılan ilaçlar

ICI-118, 551: Imperial Chemical Industries, İngiltere, Rezerpin: Ciba-Geigy, Prazosin: Pfizer, Hidrokortizon: Deva Holding.

BULGULAR

a. Adrenaline kronotropik yanıtlar

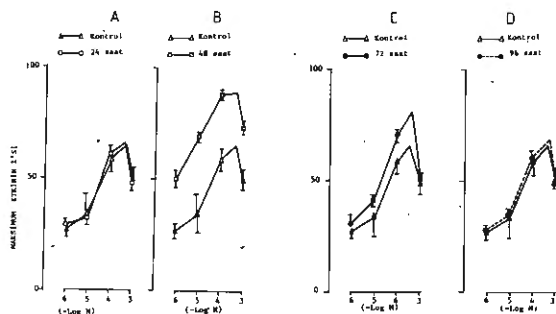
Gerek kontrol gerekse deney gruplarındaki deneklerden izole edilen kalplere adrenalin uygulamasında optimum yanıtlar 10⁻⁶-10⁻³ M konsantrasyonlar arasında elde edildi. Maksimum yanıt son ilaç uygulamasından 48 ve 72 saat sonra deney alınan deneklerde 3x10⁻⁴ M konsantrasyondaki adrenalin ile 220/dakika olarak saptandı.

Maksimum etkinin yüzdesi üzerinden yapılan değerlendirmede ICI-118, 551 uygulanmasından 48 saat sonra deneye alınan kalplerdeki kronotropik yanıtların kontrol gruplarına göre belirgin olarak arttığı gözlemlendi. Buna uygun olarak sözkonusu grubun (48 saat grubu) pD₂ değeri de diğer gruplardan yüksek olarak saptandı (Tablo 1 ve Şekil 1a-d). Bütün gruplarda 3x10⁻⁴ M konsantrasyonda doruk noktalar ulaşıldı. 10⁻³ M konsantrasyonda deneylerin

Tablo 1. Kronik ICI-118, 551 uygulanmasının kesilmesinden 24, 48, 72, 96 saat sonra adrenaline verilen kronotropik yanıtlar (pD₂±SH)

Kontrol (n=15)	24 (n=8)	48 (n=8)	72 (n=10)	96 (n=6)
5.62±0.11	5.68±0.11	7.04±0.07*	5.78±0.15	5.74±0.11

* Biyoistatistiksel olarak anlamlı.



Şekil 1. Kronotropik yanıtların kontrol grubuna karşılık a. 24 saat, b. 48 saat, c. 72 saat, d. 96 saat değerlerinin eğrileri.

hepsinde hafif bir düşmeyi takiben fibrilasyon ve asistoli geliştiği gözlemlenmiştir.

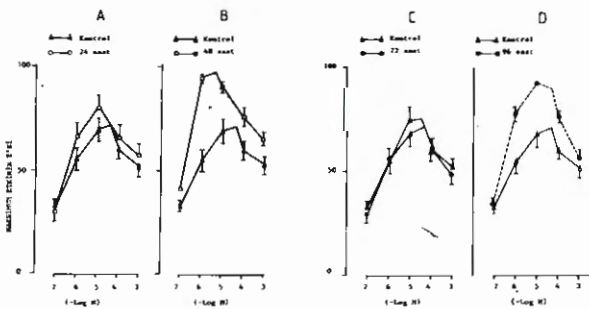
b. Adrenaline inotropik yanıtlar

Adrenaline inotropik yanıtlar 10^{-7} - 10^{-3} M konsantrasyonlar arasında değerlendirildi. ICI-118-551 uygulanmamış intakt preparatlarda minimal yanıt 10^{-7} M adrenalinle 155.55 mg olarak gözlemlendi. Aynı grupta 10^{-5} M ve 3×10^{-5} M konsantrasyonlarda maksimum yanıt 1222.22 mg idi. Bu yanıtta 24 saat grubunda 3×10^{-5} M konsantrasyonda da ulaşılmasına karşın diğer grup ve konsantrasyonlarda benzer bir yanıt gözlemlenmedi.

Tablo 2 de görüldüğü gibi gruplar arasında biyostatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmedi. Özellikle 96 saat grubunun pD_2 değeri kontrol grubuyla aynı bulundu. Kontrol ve 72 saat gruplarında adrenalinin 10^{-5} M, 24 ve 96 saat gruplarında ise 3×10^{-5} M konsantrasyonlarında doruk noktalara ulaşıldı. Bunlar sırasıyla maksimum etkinin yüzdesi olarak 71.87 ± 5.88 , 75.26 ± 5.81 , 79.31 ± 6.41 , 92.11 ± 0.77 olarak belirlendi. 48 saat grubunda ise 3×10^{-6} M konsantrasyondaki adrenalin ile maksimum etkinin $\%97.04 \pm 0.97$ 'sine ulaşıldı. Doruk noktasına ulaşıldıktan sonra artan adrenalin konsantrasyonlarında miyokardın kasılma gücünün belirgin olarak düştüğü görülmektedir (Şekil 2a-d).

Tablo 2. Kronik ICI-118, 551 uygulanmasının kesilmesinden 24, 48, 72, 96 saat sonra adrenaline verilen inotropik yanıtlar ($pD_2 \pm SH$)

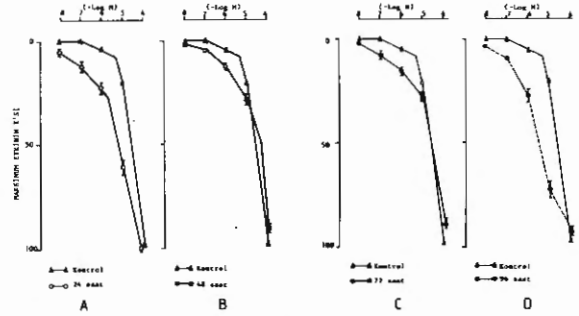
Kontrol (n=15)	24 (n=8)	48 (n=8)	72 (n=10)	96 (n=6)
7.73 ± 0.07	7.85 ± 0.07	7.96 ± 0.15	7.43 ± 0.07	7.74 ± 0.10



Şekil 2. İnotropik yanıtların kontrol grubuna karşılık a. 24 saat, b. 48 saat, c. 72 saat, d. 96 saat değerlerinin eğrileri.

Tablo 3. Kronik ICI-118, 551 uygulanmasının son dozundan 24, 48, 72, 96 saat sonra ve kontrol deneklerin $BaCl_2$ ile kasılmış torasik aortaların adrenaline gevşeme yanıtları ($pD_2 \pm SH$)

Kontrol (n=10)	24 (n=10)	48 (n=10)	72 (n=10)	96 (n=10)
5.79 ± 0.03	5.93 ± 0.02	5.76 ± 0.03	5.81 ± 0.02	6.65 ± 0.10



Şekil 3. Aortun gevşeme yanıtlarının kontrol grubuna karşılık a. 24 saat, b. 48 saat, c. 72 saat, d. 96 saat değerlerinin eğrileri (Kontrol grubu eğrilerinin standart hatası çok küçük olduğu için grafikte gösterilememiştir).

c. Aort şeritlerinin adrenaline yanıtları

Deney kapsamına alınan 47 denekten hazırlanan 94 aort preparatının standartlara uyan 50'sinin sonuçları her grup için 10'ar adet olmak üzere biyostatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm test dokuları stabilizasyon süresinin sonunda maksimal kasılmayı elde etmek üzere 10^{-1} M $BaCl_2$ ile kasıldığında en büyük yanıtın 72. saat grubunda olduğu gözlemlendi. Adrenaline gevşeme yanıtı da bu grup için (72. saat grubu) 10^{-4} M adrenalin dozunda maksimumdu. 10^{-1} M $BaCl_2$ ile kasılmış torasik aort segmentlerinin adrenaline gevşeme yanıtlarının maksimum etkinin yüzdesi olarak değerlendirmesiyle elde edilen doz-yanıt eğrisi Şekil 3a-d'de izlenmektedir. Buna göre pD_2 değerleri de Tablo 3'de görüldüğü gibi 96 saat grubunda kontrole göre adrenaline duyarlılığın arttığını göstermektedir, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Uzun süreli b-bloker kullanımının dokularda β -AR yoğunluğunda artışa (up-regulation) neden olduğu bilinmektedir (1,13,22). Reseptör yoğunluğundaki bu artış kullanılan antagonistin tipine, hedef hücre veya dokuya ve reseptör alt tipine göre farklılık gösterir (1,22). Antagonist varlığında dokulardaki β -AR artışı,

antagonistin ortamdaki uzaklaşmasıyla agonist yanıtında bir süpersensitiviteye neden olmaktadır. Klinikte β -bloker kesilme sendromu olarak tanımlanan bu durum deneysel ve klinik çalışmalarda İSE'si (-) β 1-selektif ve selektif olmayan β -blokerlerle gözlemlenmiştir (22-29).

Bu çalışmada, ICI-118, 551 ile 21 günlük tedavinin ani kesilmesini takiben in-vitro koşullarda adrenal kronotropik etkilerinde anlamlı artış saptanırken, inotropik ve torasik aort gevşeme yanıtlarında kontrollere göre fark bulunamadı. Kronotropik yanıtlardaki artış kesilme sonrası 48'inci saatte anlamlı bulundu. Bu konuyla ilgili benzer çalışmalar gözden geçirildiğinde, Tenner, izole sıçan kardiyovasküler dokusu üzerinde 14 günlük propranolol tedavisinden sonra ilacın ani kesilmesini izleyen 72 ve 96'inci saatlerde isoprenalinin inotropik ve kronotropik yanıtlarında süpersensitivite olduğunu göstermiştir (14).

Yine Tenner'in tavşanlar üzerinde yaptığı in-vivo çalışmada propranolol kesilmesini takiben isoprenalinin kronotropik yanıtlarında 72'inci saatte süpersensitiviteye neden olduğu belirtilmiştir (23). Nattel ve ark., 3 ay süreli propranolol tedavisi alan hastalarda, ilacın son dozundan 2-6 gün sonra isoprenaline kronotropik ve inotropik yanıt artışı bildirmiştir (30).

Boudoulas ve ark. sağlıklı gönüllü kişilerde, kısa süreli propranolol uygulamasının bitiminden 24-48 saat sonra isoprenaline kronotropik ve inotropik yanıtlarda artış olduğunu göstermiştir (26). Krukemyer ve ark., 14 gün süreyle propranolol verdikleri sağlıklı kişilerde ilacın son dozundan 2-3 ve 7. günlerde olmak üzere isoprenalinin kronotropik ve inotropik yanıtlarında bifazik artış bildirmişlerdir (27).

Rangno ve ark. propranolol ve metaprolol (β 1-selektif antagonist) kullanımından sonra 2-8 gün boyunca isoprenaline kronotropik ve inotropik yanıtlarda artış olduğunu göstermiştir (28,29). Diğer taraftan Manning ve ark. izole perfüze sıçan kalbinde, Kennedy ve Donnelly izole sıçan sağ atriyumunda uzun süreli propranolol tedavisinin (21 gün, 10 mg/kg/gün) kesilmesini takiben isoprenalinin kronotropik yanıtlarında değişiklik olmazken, inotropik yanıtlarda kesilme sonrası 16'inci saatte süpersensitivite geliştiğini göstermişlerdir (24,25).

Sözü edilen deneysel ve klinik çalışmaların hemen hepsinde β -bloker olarak propranolol (selektif olmayan β -AR blokeri), agonist olarak da isoprenaline kullanılmıştır. Bu çalışmada selektif bir β 2-AR blokeri olan ICI-118, 551 ve endojen β 2-agonist olan adrenaline kullanılmıştır. Propranololün kullanıldığı çalışmalarda isoprenaline karşı elde edilen kronotropik ve inotropik yanıtlarda süpersensitivite bulunmuştur ve bu da hem β 1-AR hem de β 2-AR yoğunluğundaki artışla açıklanmaktadır.

Çalışmamızda adrenaline kronotropik yanıtlarda süpersensitivite gözlenirken, inotropik yanıtlarda anlamlı değişiklik gözlenmedi. Memeli kalp dokusunda hem β 1-AR hem de β 2-AR varlığı radyoligand çalışmalarla gösterilmiştir. β 1 ve β 2-AR'ler değişik türlerin kalp dokusunda fonksiyonel öneme sahip farklı bölgesel dağılım gösterirler (1,8). β 2-AR'ler genelde sağ atriyumda sinoatriyal düğümde yoğunlaşmıştır ve agonistlerin kronotropik etkilerine aracılık ederler (1). β 1-AR'ler ise kalp kası hücrelerinde yoğunlaşmış ve agonistlerin hem inotropik hem de kronotropik etkilerine aracılık ederler (1).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda elde edilen kronotropik yanıt artışına karşın inotropik yanıtlardaki normallik, uzun süreli kullanılan ajanın bir β 2-selektif bloker olması ve yalnızca β 2-AR'lerde bir "up-regulation"a neden olmasıyla açıklanabilir (31,32). Kalp miyokard hücrelerinde β 1-adrenerjik reseptör yoğunluğu gözönüne alındığında (1-4,6,33-37). β 2-selektif antagonist olan ICI-118, 551'in kronik kullanımının β 1-reseptörlerde bir süpersensitiviteye neden olmayacağı tahmin edilebilir (38,39).

Bu durumda non-selektif veya β 1-selektif antagonistlerle izlenen inotropik yanıt artışları β 2-selektif antagonist olan bir ilaçtan beklenmez ve bizim bulgularımız da bu savı desteklemektedir. Ancak çalışmamızda istatistiksel olarak anlamsız da olsa inotropik yanıtlarda 72'inci saatte gözlenen azalma ilgi çekicidir. Bu bulgu in vivo ve in vitro çalışmaların verileriyle uyumluluk göstermemektedir. Ancak uzun süreli ICI-118, 551 kullanımının, non-selektif ve β 1-selektif blokerlerinden farklı olarak, miyokarda atrofiye neden olduğu yönünde verilerin varlığı düşünüldüğünde, gözlediğimiz inotropik yanıt azalması bu yönde yorumlanabilir (40). Ayrıca inotropik yanıtlardaki bu azalma propranolol

kullanımı ile görülemeyeceği gibi, doku düzeyinde gözlemediğimiz bu hafif azalma klinik çalışmalarda sistemik etkiye yansımamış olabilir. Bu tür çalışmalarda, incelenen zaman dilimi ve üzerinde çalışılan deney hayvanı türünün farklılıklarının da etkili olabileceği akıldta tutulmalıdır (3,33).

Çalışmamızda izole sıçan aortunda ICI-118, 551'in kronik kullanımının kesilmesinden sonra adrenalinin gevşeme yanıtları incelendiğinde, yanıtların kontrol grubundan farksız olduğu görüldü. Oysa β 2-reseptör hakimiyeti olan bu dokuda adrenaline gevşeme yanıtlarının beklenildiği ölçüde olmayışı ilginçtir. Tenner'in izole sıçan aortunda yaptığı ve propranolol kullandığı benzer çalışmada, isoprenalinin gevşeme yanıtlarının 72 ve 96'ncı saatlerde anlamlı arttığı bildirilmiştir (14). Bulgularımızla çelişkili olan bu veriler aorttaki β 2-AR'lerin moleküler farklılığından, kullanılan blokerlerin kimyasal yapısından veya yöntemden kaynaklanıyor olabilir kanısındayız. Bu durumun gerçek yorumu için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma β 2-selektif bloker ICI-118, 551'in uzun süreli kullanımının izole sıçan kalbinde adrenaline kronotropik yanıtlarda artışa neden olduğunu göstermiştir. Bu durum olasılıkla β 2-AR yoğunluğundaki ve/veya duyarlılığındaki artışa bağlıdır. İSE'si (-) olan β -blokerlerin klinik uygulamada kesilme sendromu oluşturma riski bulunduğu ve bunun da bloke ettiği reseptör veya reseptörler aracılığıyla oluştuğu gözönüne alındığında, ICI-118-551'in kesilme sendromu oluşturma riski taşıdığını düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Stiles GL, Caron MG, Lefkowitz RJ: β -adrenergic receptors: Biochemical mechanisms of physiological regulation. *Physiol Rev* 64:661, 1984
2. Hedberg A, Minneman KP, Molinoff PB: Differential distribution of beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in cat and guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 213:503, 1980
3. Wilson C, Linconl C: β -adrenoceptor subtypes in human, rat, guinea pig, and rabbit atria. *J Cardiovasc Pharmacol* 6:1216, 1984
4. Minneman KP, Hedberg A, Molinoff PB: Comparison of beta-adrenergic receptors subtypes in mammalian tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 211:502, 1979
5. Robberecht P, Delhaye M, DeNeff P, et al: The human heart beta-adrenergic receptors. Heterogeneity of

the binding sites: Presence of 50% beta-1 and 50% beta-2 adrenergic receptors. *Mol Pharmacol* 24:169, 1984

6. Brodde O-E, Karad K, Zerkowski HR, et al: Co-existence of β 1-and β 2-adrenoceptors in human right atrium: Direct identification by (+)-[125I] Iodocyanopindolol binding. *Circ Res* 53:752, 1983
7. Zerkowski HR, Ikezono K, Rohm N, et al: Human myocardial β -adrenoceptor: Demonstration of both β 1-adrenoceptors mediating contractile responses to β -agonists on the isolated right atrium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 332:142, 1986
8. Lemoine H, Kaumann AJ: Regional differences of β 1-and β 2-adrenoceptor-mediated functions in feline heart: A β 2 adrenoceptor mediated positive inotropic effect possibly unrelated to cyclic AMP. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 344:56, 1991
9. Kaumann AJ, Lemoine H: β 2-adrenoceptor-mediated positive inotropic effect of adrenaline in human ventricular myocardium: Quantitative discrepancies with binding and adenylate cyclase stimulation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 335:403, 1987
10. Johansson LH, Person H: β 2-adrenoceptors in guinea-pig atria. *J Pharm Pharmacol* 35:804, 1983
11. Liang BT, Frame LH, Molinoff PB: β 2-adrenergic receptors contribute to catecholamine-stimulated shortening of action potential duration in dog atrial muscle. *Proc Natl Acad Sci* 82:4521, 1985
12. Frishman WH: Beta adrenergic blocker withdrawal. *Am J Cardiol* 59:26F, 1987
13. Glaubiger G, Lefkowitz RJ: Elevated beta-adrenergic receptor number after chronic propranolol treatment. *Biochem Biophys Res Commun* 78:720, 1977
14. Tenner TE Jr: Propranolol withdrawal supersensitivity in rat cardiovascular tissue, in vitro. *Eur J Pharmacol* 92:91, 1983
15. Reithmann C, Wieland F, Jakobs KH, Werdan K: Intrinsic sympathomimetic activity of β -adrenoceptor antagonists: Down-regulation of cardiac β 1-and β 2-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 170:243, 1989
16. Ross PJ, Lewis MJ, Sheridan DJ, Henderson AH: Adrenergic hypersensitivity after beta blocker withdrawal. *Br Heart J* 45:637, 1981
17. Miller RR, Olson HG, Amsterdam EA, Mason DT: Propranolol withdrawal rebound phenomenon. Exacerbation of coronary events after abrupt cessation of antianginal therapy. *N Engl J Med* 293:416, 1975
18. Slome R: Withdrawal of propranolol and myocardial infarction. *Lancet* 1:156, 1973
19. Alderman EL, Coldart DJ, Wettach GE, Harrison DC: Coronary artery syndromes after sudden propranolol withdrawal. *Ann Intern Med* 81:625, 1974
20. Bilski AJ, Halliday SE, Fitzgerald JD, Vale JL: The pharmacology of a beta2-selective adrenoceptor antagonists (ICI 118, 551). *J Cardiovasc Pharmacol* 5:430, 1983
21. O'Donnel SR, Wanstell JC: Evidence that ICI-118, 551 is a potent highly beta2-selective adrenoceptor antagonist and can be used to characterise beta adrenoceptor populations in tissues. *Life Sci* 27:671, 1980
22. Aarons RD, Molinoff PB: Changes in the density of beta adrenergic receptor in rat lymphocytes, heart and lung after chronic treatment with propranolol. *J Pharmacol Exp Ther* 221:439, 1982

23. **Tenner ET Jr**: Propranolol withdrawal-induced supersensitivity to the chronotropic effects of isoproterenol in the conscious rabbit. *Life Sci* 33:2291, 1983
24. **Manning AS, Yellow DM, Coltart DJ, Hearse DJ**: Abrupt withdrawal of chronic β -blockade: Adaptive changes in cyclic AMP and contractility. *J Mol Cell Cardiol* 13:999, 1981
25. **Kennedy RH, Dondenly TE Jr**: Cardiac responsiveness after acute withdrawal of chronic propranolol treatment in rats. *Gen Pharmacol* 13:231, 1982
26. **Boudoulas H, Lewis RP, Kates RE, Dalamangas G**: Hypersensitivity to adrenergic stimulation after propranolol withdrawal in normal subjects. *Ann Intern Med* 87:433, 1977
27. **Krukemyer JJ, Boudoulas H, Binkley PF, Lima JJ**: Biphasic pattern of hypersensitivity following acute propranolol withdrawal in normal subjects. *Life Sci* 45:1547, 1989
28. **Rangno RE, Nattel S, Lutterodt A**: Prevention of propranolol withdrawal mechanism by prolonged small dose propranolol schedule. *Am J Cardiol* 49:828, 1982
29. **Rangno RE, Langlois S, Lutterodt A**: Metaprolol withdrawal phenomena: Mechanism and prevention. *Clin Pharmacol Ther* 31:8, 1982
30. **Nattel S, Rangno RE, Loon GV**: Mechanism of propranolol withdrawal phenomena. *Circulation* 59:1156, 1979
31. **Michel MC, Pingsmann A, Beckeringh JJ, Zerkowski HR, Doetsch N, Brodde OE**: Selective regulation of beta1 and beta2 adrenoceptors in the human heart by chronic beta-adrenoceptor antagonist treatment. *Br J Pharmacol* 94:685, 1988
32. **Elfellah MS, Reid JL**: Regulation of β 1- and β 2-adrenoceptors following chronic treatment with β -adrenoceptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 173:85, 1989
33. **Kenakin TP**: The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. *Pharmacol Rev* 36:165, 1984
34. **Minneman KP, Molinoff PB**: Classification and quantitation of β -adrenergic receptor subtypes. *Biochem Pharmacol* 29:1317, 1980
35. **Hoffmann BB, Lefkowitz RJ**: Radioligand binding studies of adrenergic receptors: New insights into molecular and physiological regulation. *Ann Rev Pharmacol Toxicology* 20:581, 1980
36. **Engel G**: Subclasses of beta-adrenoceptors - a quantitative estimation of beta1- and beta2 adrenoceptors in guinea pig and human lung. *Postgrad Med J* 57(Suppl 1):77, 1981
37. **Brodde OE, Leifert FJ, Krehl HJ**: Coexistence of β 1- and β 2-adrenoceptors in the rabbit heart: Quantitative analysis of regional distribution by (-)-3 H-dihydroalprenolol binding. *J Cardiovasc Pharmacol* 4:34, 1982
38. **Bolli P, Bühler FR, Raeder EA, et al**: Lack of beta-adrenoceptor hypersensitivity after abrupt withdrawal of long term therapy with oxprenolol. *Circulation* 64:1130, 1981
39. **Fukanaga H, Saito K, Tanaka H**: Increased number of beta-adrenoceptors in cultured heart cell after propranolol withdrawal. *Jpn Heart J* 31:693, 1990
40. **Sillence HN, Matthews ML, Spiers WG, et al**: Effect of clenbuterol, ICI-118, 551 and sotalol on the growth of cardiac and skeletal muscle and on β 2-adrenoceptor density in female rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 344:449, 1991