

Caracterización de receptores adrenérgicos beta-2 en arteria uterina humana

M. J. García de Boto, F. Andrés-Trelles y A. Hidalgo*

Departamento de Farmacología y Terapéutica
Facultad de Medicina
Oviedo

(Recibido el 8 de agosto de 1983)

M. J. GARCIA DE BOTO, F. ANDRES-TRELLES and A. HIDALGO. *Characterization of the Adrenergic Beta-2 Receptors in the Human Uterine Artery*. Rev. esp. Fisiol., 40, 449-454, 1984.

The actions of the hexoprenaline, salbutamol and terbutaline on adrenalin-induced effects in the human artery were studied *in vitro*. The human uterine artery has a two-part response to adrenalin: The first, rapid (phasic component), and the second, slow and sustained (tonic component). Both beta-2 stimulators relax the tonic component and reduced the amplitude of the phasic component. The depressor effect of the responses to adrenalin is reduced in the presence of butoxamine and intensified in the presence of caffeine. These results suggest the existence on the human uterine artery of beta-2 adrenergic receptors acting as mediators of smooth muscle relaxation, and suggest also that the mechanism of this relaxation is most likely cAMP dependent.

Key words: Human uterine artery, β -2 adrenergic receptors.

La existencia de receptores adrenérgicos alfa y beta mediadores, respectivamente, de respuestas vasoconstrictoras y vasodilatadores ha sido descrita en músculo liso vascular humano (15) y de diferentes animales experimentales (18, 22). Sin embargo, no ha sido descrita en arteria uterina humana.

En la arteria uterina humana se co-

noce la existencia de receptores adrenérgicos alfa (5, 6, 9), mediadores de respuestas constrictoras *in vivo* (6, 7) e *in vitro* (5, 9), así como el efecto estimulante de serotonina (9), vasopresina y angiotensina (5). Sin embargo, el isoproterenol, estimulante beta adrenérgico, reduce el flujo uterino *in vivo* (6, 8) y produce contracción en tiras de arteria uterina aislada (3, 5). Efectos similares se han descrito para dobutamina, estimulante de receptores beta-1 (1, 19).

En el presente trabajo se estudia la

* A quien debe dirigirse toda la correspondencia.

posible existencia de receptores adrenérgicos beta, mediadores de respuestas relajantes en arteria uterina humana, ensayando diferentes agonistas selectivos de receptores beta-2.

Material y métodos

Se han utilizado 48 arterias uterinas humanas procedentes de 30 hysterectomías de indicación ginecológica, por mioma uterino. Las edades de las pacientes oscilaron entre los 49 y los 68 años y ninguna de ellas había recibido tratamiento hormonal previo a la intervención quirúrgica. Una vez limpias de adherencias las arterias se cortaron en espiral, según la técnica para aorta aislada de conejo (2), y en segmentos de 2,5 cm de longitud y 0,2 cm de ancho, se montaron en baños de órgano aislado de 40 ml de capacidad incubados en Krebs de composición mM: ClNa, 118; ClK, 4,75; Cl₂Ca, 2,5; PO₄KH₂, 1,19; CO₃HNa, 25; SO₄ Mg, 1,2 y glucosa, 11 y sometidas a la tensión de 1 g, dejándolas estabilizar durante 2 h. Durante toda la experimentación se mantuvieron constantes la temperatura (37° C) y la oxigenación con carbógeno (95 % O₂ y 5 % CO₂). Las contracciones se registraron en un polígrafo Washington MD 4C mediante transductores isométricos Washington D1. Los fármacos se añadieron directamente al baño de órganos. Se utilizaron dos pautas experimentales para ensayar el efecto de los estimulantes beta-2 sobre las respuestas inducidas por adrenalina: antagonismo de la respuesta y relajación del componente tónico de la respuesta inducida por adrenalina. En el primer caso, el estimulante beta-2 se añadió al baño de órgano 5 min antes de estimular con adrenalina; en el segundo, se añadió una vez alcanzada la amplitud máxima de la contracción y se mantuvo durante 15 minutos en el medio de incubación.

Se utilizaron los siguientes fármacos: adrenalina (Epinephrine, Sigma), hexoprenalina (Clorhidrato de hexoprenalina, Lacer, S.A.), salbutamol (Sulfato de salbutamol, Glaxo), terbutalina (Sulfato de terbutalina, Ifesa, S.A.), cafeína (Caffeine anhidrous, Sigma), butoxamina (Butoxamine, Burroughs Wellcome Co.).

Resultados

La arteria uterina humana responde a la adrenalina con una contracción en la que pueden distinguirse dos fases claramente distintas: una inicial rápida (componente fásico) seguida de otra mantenida (componente tónico). La respuesta tónica una vez estabilizada, se mantiene durante 15-20 min sin relajación espontánea significativa (fig. 1).

Los estimulantes beta-2 ensayados, hexoprenalina, salbutamol y terbutalina, producen una relajación dosis y tiempo dependiente del componente tónico de la respuesta a adrenalina ($2,5 \times 10^{-6}$ g/ml) (fig. 1) en comparación con la relajación espontánea durante los 15 min de observación. Los tres fármacos produjeron una relajación total, a los 15 min de incubación, con la dosis más alta (fig. 2).

Tanto la hexoprenalina como el salbutamol y la terbutalina disminuyen la amplitud de las respuestas a adrenalina cuando se preincuba con ellos durante 5 min, afectando fundamentalmente a la amplitud del componente fásico sin modificar sustancialmente el componente tónico, que mantiene la misma morfología que en situaciones controles (fig. 1). Los tres agonistas beta-2 disminuyen las respuestas a adrenalina en el mismo rango de dosis (1×10^{-4} - 1×10^{-3} g/ml), sin que existan diferencias apreciables entre ellos.

El efecto depresor de la hexoprenalina se reduce en presencia de butoxa-

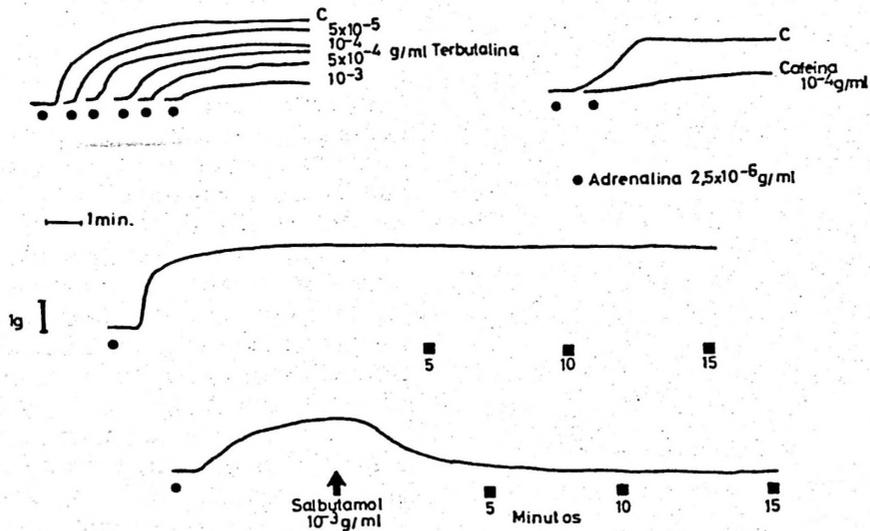


Fig. 1. Ejemplos representativos del antagonismo por terbutalina y cafeina (parte superior), y de la relajación por salbutamol (parte inferior) del componente tónico de la respuesta de la arteria uterina humana in vitro a adrenalina.

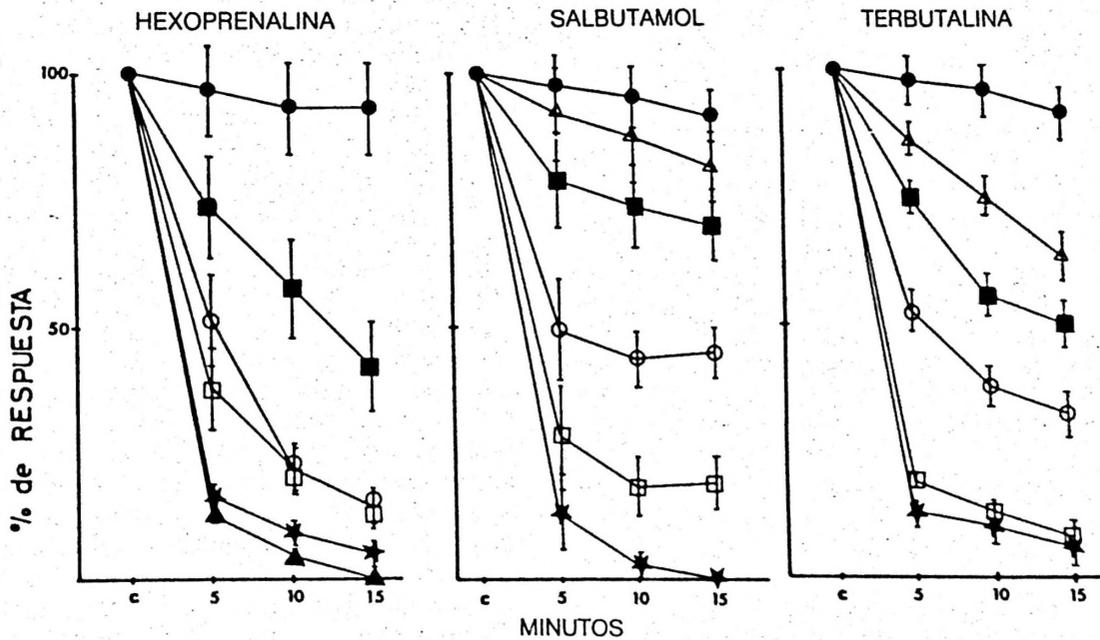


Fig. 2. Efecto relajante de tres estimulantes beta-2 sobre el componente tónico de la respuesta de la arteria uterina humana in vitro a adrenalina.

En ordenadas, porcentaje de respuesta máxima. En abscisas, C: Control (respuesta a adrenalina $2,5 \times 10^{-6}$ g/ml) (●); 5-15 minutos, tiempo de observación del efecto relajante. Las barras verticales representan el E.S.M. para un mínimo de 6 datos para cada una de las dosis de hexoprenalina, salbutamol y terbutalina ensayadas en g/ml: 5×10^{-5} (△), 1×10^{-4} (■), $2,5 \times 10^{-4}$ (○), 5×10^{-4} (□), $7,5 \times 10^{-4}$ (▲) y 1×10^{-3} (★).

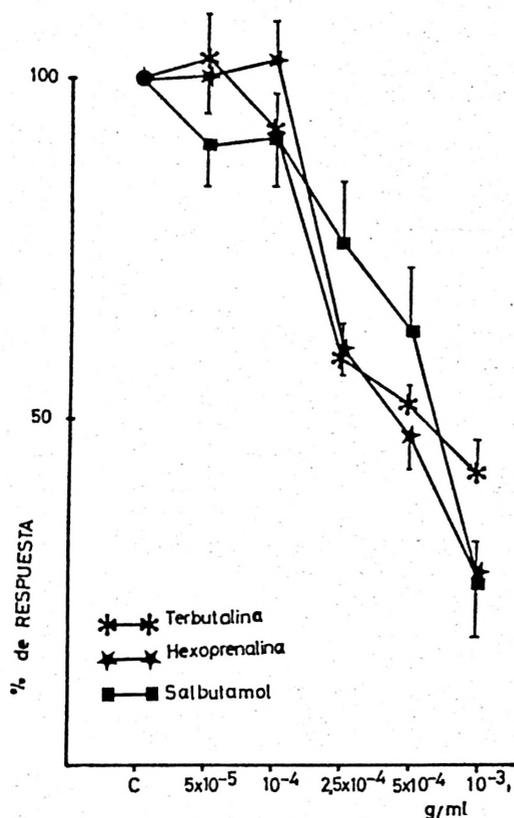


Fig. 3. Efecto inhibitorio de tres estimulantes de receptores adrenérgicos beta-2 sobre las respuestas de la arteria uterina in vitro a adrenalina. En abscisas: C: Control (respuesta a adrenalina $2,5 \times 10^{-6}$ g/ml); 5×10^{-5} - 1×10^{-3} g/ml, dosis de los agonistas beta-2 ensayados. En ordenadas, porcentaje de respuesta máxima. Las barras verticales representan el E.S.M. para un mínimo de 6 datos.

mina, antagonista competitivo de receptores adrenérgicos beta-2, a dosis (1×10^{-5} g/ml) que no modifican las respuestas a adrenalina (fig. 4.A y 5). Por otra parte, la cafeína, inhibidor de fosfodiesterasa, produce un efecto depresor, dosis dependiente (5×10^{-5} - 5×10^{-4} g/ml), de las respuestas a adrenalina (fig. 1), y potencia la inhibición producida por hexoprenalina (figs. 4.B y 5).

Discusión

Las respuestas de la arteria uterina humana a la adrenalina presentan un doble componente, fásico y tónico, que pueden estar en relación con la movilización de los diferentes depósitos de calcio descritos en el músculo vascular, según lo cual el componente fásico puede corresponder a la entrada de calcio extracelular o a movilización del calcio débilmente ligado a la membrana, mientras que la movilización del calcio intracelular puede ser la responsable de la aparición del componente tónico (4, 23).

Tanto la hexoprenalina como el salbutamol y la terbutalina reducen la amplitud de la respuesta inducida por adrenalina y este efecto se reduce en presencia de butoxamina, bloqueante selectivo de receptores adrenérgicos beta-2 (13), lo que sugiere que el efecto depresor se produce por activación de receptores beta-2 mediadores de respuestas inhibitorias en arteria uterina humana, cuya existencia había sido descartada ya que la dobutamina (1, 19) y el isoproterenol (6, 7) disminuyen el flujo sanguíneo uterino además de contraer este último, las tiras de arteria uterina aislada (5, 10).

Se han postulado dos mecanismos para explicar la relajación del músculo liso vascular consecutivamente a la estimulación de receptores beta. Por una parte, se hace responsable al acúmulo de AMPc consecutivo a la activación de adenil-ciclasa (17, 20), mientras que los resultados de otros autores sugieren como más responsable, que la relajación sea debida a la salida de calcio de la célula o a un aumento del acúmulo en sus sitios de almacenamiento intracelular (11). Sin embargo, parece posible que ambos mecanismos estén implicados: el estímulo de receptores beta en músculo liso vascular y en otras estructuras se acompaña de un aumento de AMPc intracelular y este aumento

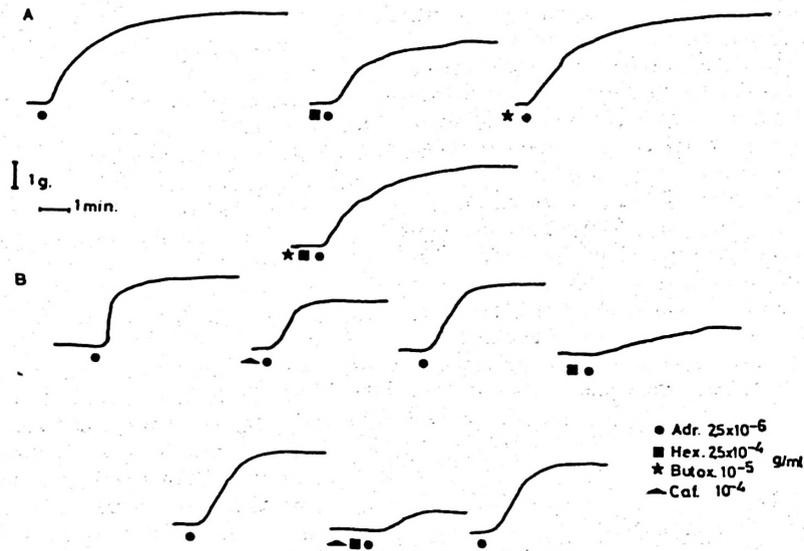


Fig. 4. Ejemplos representativos del efecto inhibitor de la hexoprenalina sobre las respuestas de la arteria uterina humana *in vitro* a adrenalina y su antagonismo por butoxamina (A). En (B) se representa el sinergismo de los efectos inhibitorios de la cafeina y la hexoprenalina sobre las respuestas de la arteria uterina humana *in vitro* a adrenalina.

puede reducir el contenido de calcio libre intracelular por aumentar su salida al espacio extracelular o incrementando su acúmulo en los sitios de almacenamiento (11, 12, 14, 16, 21). El efecto depresor de la cafeína sobre las respuestas de la arteria uterina humana a la

adrenalina y el hecho de que potencia la inhibición por hexoprenalina, sugiere que el acúmulo de AMPc intracelular, consecutivo a la estimulación de receptores beta-2, es el responsable del efecto inhibitor de la hexoprenalina, el salbutamol y la terbutalina en arteria uterina humana. Este mismo mecanismo puede ser el responsable de la relajación del componente tónico de la respuesta a adrenalina.

Los resultados aquí expuestos sugieren la existencia de receptores adrenérgicos beta-2 mediadores de respuestas relajantes en arteria uterina humana y que su efecto puede ser mediado a través de AMPc.

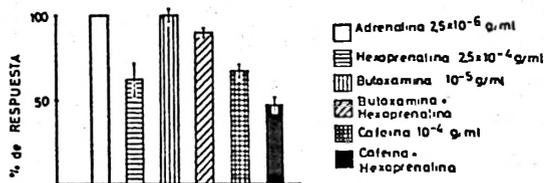


Fig. 5. Efecto de la hexoprenalina, butoxamina, hexoprenalina + butoxamina, cafeina y hexoprenalina + cafeina sobre las respuestas inducidas por adrenalina (2.5×10^{-6} g/ml) en la arteria uterina humana *in vitro*.

En ordenadas, porcentaje de respuesta máxima. Las barras verticales representan el E.S.M. para un mínimo de 6 datos.

Resumen

Se estudia el efecto de la hexoprenalina, el salbutamol y la terbutalina, sobre las respuestas de la arteria uterina humana *in vitro* inducidas por

adrenalina. Las respuestas de la arteria uterina humana a la adrenalina presentan un doble componente: Uno inicial rápido (componente fásico) y otro lento mantenido (componente tónico). Ambos estimulantes beta-2 relajan el componente tónico y reducen la amplitud del componente fásico. El efecto depresor de los estimulantes beta-2 frente a las respuestas a adrenalina se reducen en presencia de butoxamina, bloqueante beta-2, y se potencian en presencia de cafeína, inhibidor de fosfodiesterasa. Los resultados obtenidos sugieren la presencia de receptores adrenérgicos beta-2 mediadores de respuestas relajantes del músculo liso de la arteria uterina humana y que el mecanismo de la relajación es AMPc-dependiente.

Bibliografía

1. FISHBURNE, J. I., MEIS, P. J., URBAN, R. B., GREISS, F. C., WHEELER, A. S., JAMES, F. M., SWAIN, M. F. y RHYNE, A. L.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 137, 944-954, 1980.
2. FURCHGOTT, R. F. y BHADREKON, S.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 108, 129-142, 1953.
3. GARCÍA DE BOTO, M. J.: Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Madrid. 1981.
4. GOUCH, E. D. y DYER, D. C.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 110, 625-629, 1971.
5. GREENBERG, S., LONG, J. P. y DIECKE, F. P. J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 185, 493-504, 1973.
6. GREISS, F. C.: *Obstet. Gynecol.*, 21, 295-301, 1963.
7. GREISS, F. C. y PICK, J. R.: *Obstet. Gynecol.*, 23, 209-213, 1964.
8. GREISS, F. C. y WILKES, D. V.: *Obstet. Gynecol.*, 23, 295-230, 1964.
9. HIDALGO, A., BENEIT, J. V. y LORENZO, P.: *Acta Ginecol.*, 34, 245-253, 1979.
10. HIDALGO, A., GARCÍA DE BOTO, M. J. y ANDRÉS-TRELLES, F.: *FESBE-2*, p. 316, 1981.
11. ITOH, T., IZUMI, H. y KURIYAMA, H.: *J. Physiol.*, 326, 475-493, 1982.
12. KROEGER, E. A. y MARSHALL, J. M.: *Am. J. Physiol.*, 226, 1298-1303, 1974.
13. LEVY, B.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 151, 413-422, 1966.
14. MARSHALL, J. M. y KROEGER, E. A.: *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 265, 135-148, 1973.
15. MAYER, S. E.: En «Las bases farmacológicas de la terapéutica» (A. Goodman, L. S. Goodman y A. Gilman, eds.). Panamericana, Buenos Aires, pp. 72-104, 1981.
16. MINNEAU, K. P., PITTMAN, R. N. y MOLINOFF, P. B.: *Ann. Rev. Neurosci.*, 4, 419-461, 1981.
17. NAMM, D. H., LEADER, J. P.: *Blood Vessels*, 13, 24-32, 1976.
18. O'DONNELL, S. R. y WANSTALL, J. C.: *Br. J. Pharmacol.*, 74, 547-553, 1981.
19. OZAKI, N., KAWAKITA, S. y TODA, N.: *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 4, 456-461, 1982.
20. PEUFFER, VON T.: *Arzneim-Forsch-Drug Res.*, 30, 1987-1991, 1980.
21. SCHAUB, M. C. y WATTERSON, J. G.: *Trends Pharmacol. Sci.*, 2, 279-282, 1981.
22. TOKUDOME, T. y TAIRA, N.: *Jpn. J. Pharmacol.*, 31, 731-736, 1981.
23. WEISS, G. B.: En «New Perspectives on calcium antagonist» (G. B. Weiss, ed.). Am. Physiol. Soc. Waverly Press, Inc., Baltimore, 1981. pp. 83-107.