

Adenosina: Acciones Fisiológicas y Farmacológicas

Adenosine. Physiological and Pharmacological Actions

ENRIQUE CONTRERAS M.

Departamento de Ciencias Fisiológicas (Farmacología),
Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales,
Universidad de Concepción, Casilla 2407, Concepción, Chile

Adenosine exerts numerous effects in the central and autonomic nervous systems, most of which seem to be receptor mediated. Several studies have revealed two distinct receptors, based upon effects of adenosine on adenylate cyclase activity, designed A₁ or A₂ according to whether the cyclase is inhibited or activated. However, since not all adenosine receptors are linked to adenylate cyclase some authors base their classification on the rank orders of potencies of adenosine analogues in eliciting responses.

The purine seems to function as a modulatory substance in the heart, blood, ileum, vas deferens, and adipose tissue. In addition, important responses to exogenously added adenosine are also induced in the bronchii, urinary bladder, taenia coli, parietal cells of the stomach and renin secretion. Adenosine and its analogues elicit anticonvulsant responses, sedation and hypothermia through their actions in the central nervous system.

The mechanisms by which adenosine elicits its responses have not been clearly established. The activation of A₁ receptors depresses the release of neurotransmitters and inhibit the influx of Ca into nerve terminals. Whether this effect is induced by interaction with Ca channels or by impairment of Ca dependent processes associated with neurotransmitter release is unknown. In the rat heart adenosine inhibits adenylate cyclase and subsequently the phosphorylation of L-type Ca channels, resulting in a decrease of calcium influx in the muscle cell. The responses to activation of A₂ receptors in smooth muscle consist in relaxation presumptively by an increase of K current which would hyperpolarize the cell.

INTRODUCCION

La adenosina y los nucleótidos de adenina (ATP, ADP y AMP) desempeñan importantes papeles bioquímicos y fisiológicos en el organismo, incluyendo su muy conocida participación en diversos procesos metabólicos celulares. Estas acciones en el metabolismo celular han creado ciertas dificultades de interpretación de algunos resultados experimentales y también han constituido un impedimento para aceptar funciones neuromoduladoras y neurotransmisoras a los derivados purinérgicos. Sin embargo, la acumulación de evidencias que apoyan estas acciones en diversos órganos y tejidos, como asimismo en el sistema nervioso, ha permitido la elaboración de la hipótesis purinérgica de la transmisión en fibras nerviosas que liberan mediadores resistentes al bloqueo de noradrenalina y acetilcolina.

En lo que respecta a adenosina, las primeras informaciones datan del trabajo

de Drury y Szent Gyorgyi (1), quienes en 1929 demostraron las acciones vasodilatadoras de adenosina y la bradicardia y el efecto inótropo negativo del nucleósido. Los estudios se centraron especialmente en el aparato cardiovascular, pero posteriormente Feldberg y Sherwood (2) demostraron que la administración intra cerebroventricular de adenosina da lugar a efectos sedantes en el gato, siendo luego propuesta como un posible neurotransmisor. Las acciones en el sistema nervioso central (SNC) recibieron especial interés cuando Sattin y Rall (3) informaron que el nucleósido induce un aumento de la concentración de AMP cíclico (AMPc) en cortes de tejido cerebral de mamíferos, y que las metilxantinas actúan como antagonistas de adenosina. Diversos trabajos, entre ellos los de Snyder *et al.* (4), han permitido confirmar la hipótesis de que adenosina ejerce acciones moduladoras tanto en los procesos bioquímicos del tejido nervioso como en

aquellos asociados a la neurotransmisión. En los últimos años se ha relacionado el efecto de ciertos fármacos con la actividad funcional del nucleósido en el SNS, entre los que se incluyen a derivados opiáceos y benzodiazepinas (5, 6). El propósito de esta revisión ha sido analizar algunos de los efectos más destacados de adenosina en el SNC y en algunos órganos y tejidos periféricos donde parece ejercer un destacado papel fisiológico.

ADENOSINA ENDOGENA EN SISTEMA NERVIOSO Y CORAZON

Origen y depósito.

La adenosina intracelular se forma primariamente por desfosforilación del 5' AMP, reacción catalizada por la enzima 5'-nucleotidasa (Fig. 1). La actividad enzimática se

encuentra en parte asociada muy estrechamente a la membrana celular y a transportadores de nucleósidos, lo que explica por qué la adenosina proveniente de AMP es transportada más rápidamente que el nucleósido mismo (7). Existen varias fuentes posibles para el precursor inmediato de adenosina, siendo una de ellas la que se encuentra en el citosol en equilibrio con ADP y ATP, pero igualmente puede provenir del AMPc y del AMP mitocondrial (8). La existencia en diversos tejidos de una 5'-ectonucleotidasa sugiere que una fracción significativa de adenosina extracelular pueda originarse a partir de nucleótidos extracelulares, lo que ha sido señalado tanto en tejido nervioso (9) como en el miocardio (10).

Una cantidad importante del nucleósido resulta de la actividad de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa en el músculo cardíaco y en tejido nervioso. La S-adenosil-

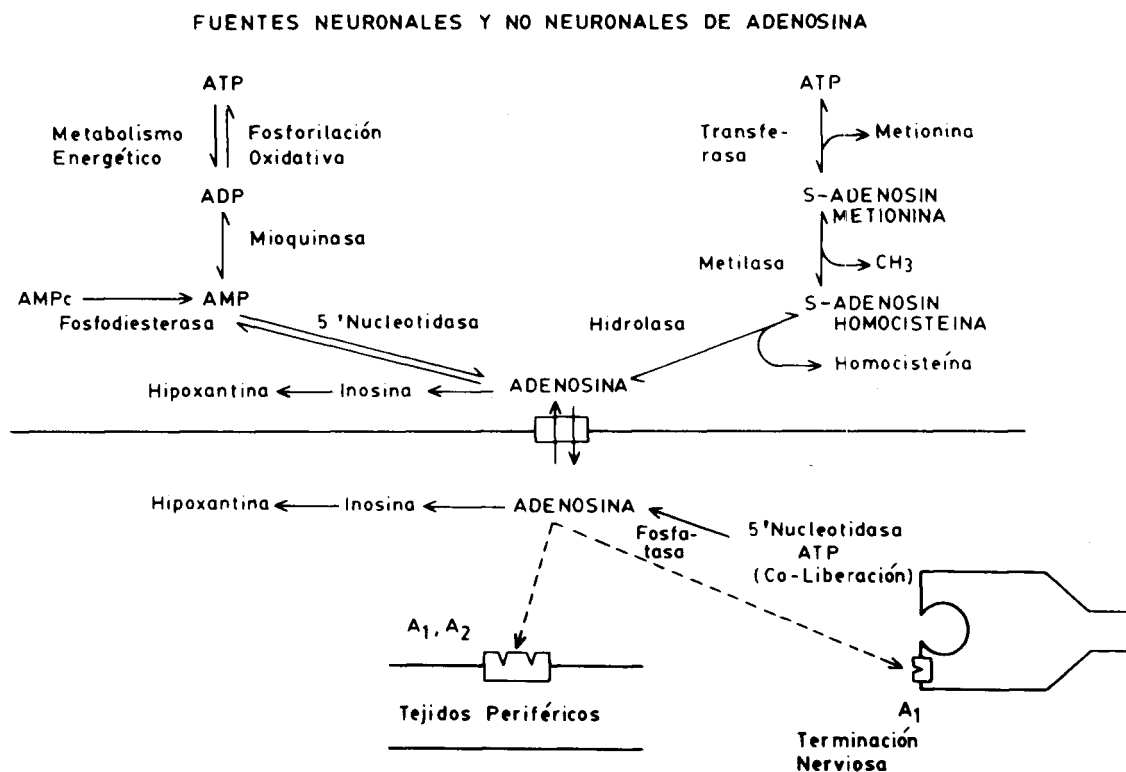


Fig. 1: La adenosina proveniente de tejidos neuronales o extraneuronales actúa como agonista de receptores A_1 o A_2 , dando lugar a inhibición o estimulación de la adenilciclase, a inhibición de la liberación de neurotransmisores o a modificaciones fisiológicas en diversos efectores. La adenosina extracelular puede ser desaminada extracelularmente, o bien puede ser transportada al interior de las células donde puede seguir un camino metabólico similar al extracelular o bien ser fosforilada por adenosina quinasa y mioquinasa formando ATP. En condiciones fisiológicas la S-adenosil homocisteína puede ser una fuente importante de adenosina.

silhomocisteína es un producto proveniente de todas las metilaciones dependientes de S-adenosilmetionina, pero no se ha evaluado el valor relativo de la hidrolasa con respecto a la 5'-nucleotidasa. Por otra parte, cabe mencionar que una gran fracción de la adenosina intracelular se encuentra unida firmemente a la hidrolasa, lo que la protege de la desaminación enzimática, de modo que es posible considerarla como un depósito intracelular. Normalmente las concentraciones de adenosina en el interior de las células son muy bajas, pero ellas tienden a aumentar en períodos de isquemia, hipoxia o requerimientos energéticos mayores de la célula.

Transporte de adenosina

El transporte de adenosina hacia el espacio extracelular se confunde con el proceso de liberación de este modulador. El sistema transportador en sí es bidireccional y se ha descrito que algunos inhibidores puedan afectar tanto la salida como la recaptación (11). Entre los inhibidores del transporte, la nitrobenziltioinosina muestra gran especificidad, uniéndose además al tejido cerebral de mamíferos. La capacidad del sistema transportador de la membrana es muy elevada, de modo que la liberación desde las células es el resultado de una pequeña grandiente de concentración.

Los mecanismos responsables del transporte serían semejantes en los tejidos nervioso y cardíaco, pero en este último debe considerarse además el aporte de los capilares, ya que el endotelio libera una cierta cantidad. Cabe señalar, sin embargo, que cuando la concentración del nucleósido aumenta en el miocardio como consecuencia de diversos estímulos, el principal aporte proviene desde las células musculares y secundariamente desde el endotelio (12).

Metabolización.

La inactivación de la adenosina se efectúa por la actividad de una desaminasa específica que la transforma en inosina. Esta enzima se encuentra tanto intra como extra-

celularmente, y aunque su K_m es elevada, la V_{max} es también muy alta, lo que hace que la vía preponderante de inactivación del nucleósido sea este proceso de degradación. Parte de la adenosina se transforma en AMP por intervención de la adenosinaquinasa, pero la V_{max} de esta enzima, que es muy baja, permite suponer que en condiciones basales se encuentra muy cercana a la saturación.

Liberación.

Los procesos que regulan tanto la liberación como la inactivación de adenosina en los diversos tejidos no se encuentran totalmente aclarados. No obstante, en el corazón se sabe que la liberación y los procesos que dan lugar a una mayor síntesis son activados principalmente por la ruptura de 5'AMP y por la acción de la hidrolasa de la adenosilhomocisteína. En el SNC las fuentes del neuromodulador son el AMPc, 5'AMP y ATP (13, 14). Se encuentra demostrado que en este tejido la adenosina se sintetiza continuamente y que la inhibición de la desaminasa reduce la unión específica de diversos ligandos marcados, pero aún no se conocen con exactitud los procesos fisiológicos que dan lugar a la regulación de la síntesis y de la liberación de adenosina en el SNC. Diversos autores han llegado a la conclusión de que su liberación es permanente, dando lugar a un proceso tónico de inhibición, ya que la administración de antagonistas produce cambios significativos en la actividad celular y en los procesos de liberación de algunos neurotransmisores (15, 16).

Se estima, por otra parte, que la adenosina desempeña un rol en la homeostasis, lo que a nivel del miocardio se manifiesta por un aumento de la liberación que protege al tejido de una excesiva carga mecánica; ello se logra al disminuir la contractibilidad y al dar lugar simultáneamente a vasodilatación coronaria, con lo que se mejora el aporte de oxígeno (17). En el tejido nervioso se ha propuesto un rol similar, pensándose que su presencia pudiera bien ejercer funciones anticonvulsivas, ya que se libera durante la actividad paroxística de diversas zonas encefálicas (18).

RECEPTORES DE ADENOSINA

A fines de la década de los 70, Burnstock (19) denominó P_1 a los receptores sensibles a adenosina y P_2 a los sensibles a ATP. En forma independiente, Londos y Wolf (20) clasificaron los receptores de adenosina basándose en su interacción con la adenilciclase en adipocitos y hepatocitos. Ellos eligieron la denominación P para un sitio de ubicación intracelular que se encuentra relacionado con la subunidad catalítica. Este receptor muestra preferencia por aquellos derivados en los que no existen reemplazos químicos en el anillo de la purina, como es el caso de la 2', 5'-didesoxiadenosina. Este sitio P no debe confundirse con las denominaciones P_1 y P_2 que representan receptores de ubicación extracelular. La activación del sitio P se efectúa con concentraciones altas de adenosina, el sitio no es bloqueado por metilxantinas y por el momento se desconoce el significado fisiológico de este sitio de unión. Los autores mencionados denominaron con la letra R a aquellos receptores que requieren de la presencia del anillo ribosa intacto en la molécula para ejercer su actividad agonista. La clasificación se completó con las denominaciones R_i y R_a (inhibidor, activador), basándose en que la interacción agonista-receptor pueda dar lugar a inhibición o activación de la adenilciclase.

Van Calker *et al.* (21) trabajando con cultivos de células cerebrales de ratón denominaron A_1 y A_2 a los receptores R_i y R_a , respectivamente. Esta denominación es la que se ha impuesto en la mayoría de las publicaciones recientes. Tanto los receptores A_1 como A_2 se encuentran ligados a las subunidades catalíticas de la adenilciclase por medio de las proteínas N_i y N_s o G_i y G_s , proteínas reguladoras que se activan cuando se unen a GTP. Existe la idea general de que no todos los receptores de adenosina se encuentran ligados a la adenilciclase, de manera que los efectos fisiológicos de la unión de adenosina al receptor pueden, en algunos tejidos, dar lugar a acciones que no se correlacionan con cambios en la concentración de AMPc. En consecuencia, la inducción de algunos efectos puede ser independiente de la actividad enzimática, a modo de ejemplo, activando o inhibiendo la función de canales iónicos (Fig. 2). Por otra parte, el pool total de adenilciclase de un determinado tejido puede encontrarse ligado a receptores de adenosina solamente en una pequeña proporción del total de la enzima, en cuyo caso los cambios inducidos por la acción sobre esos receptores no logran ser detectados. Stone (22) propuso clasificar las respuestas mediadas por receptores de adenosina de acuerdo a un orden de potencia de varios análogos para producir una deter-

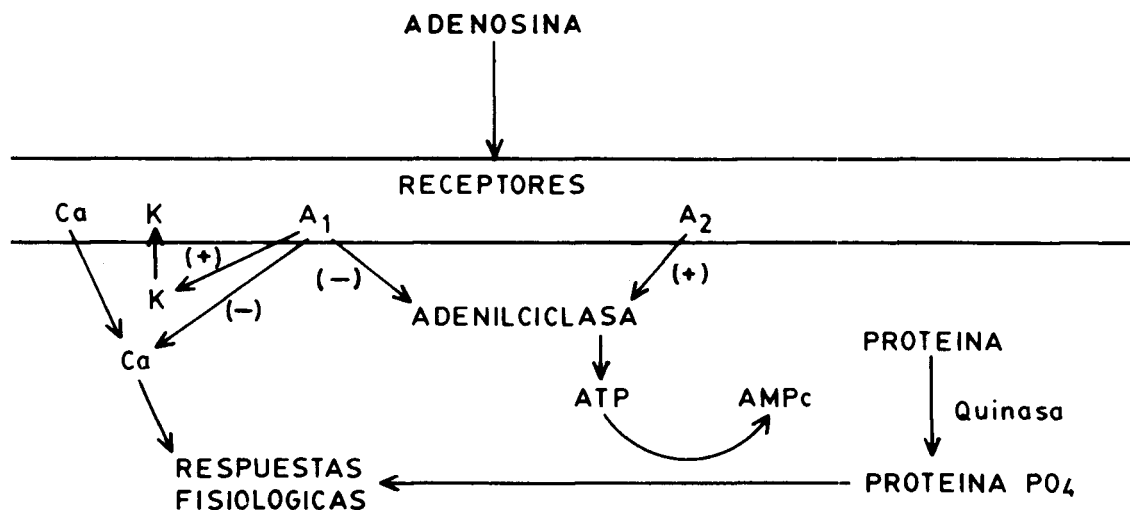


Fig. 2: Las acciones de adenosina pueden ser ejercidas sobre dos tipos de receptores, los A_1 que inhiben la adenilciclase o los A_2 que ejercen un efecto opuesto llevando a un aumento de la concentración de AMP cíclico y subsecuentemente a fosforilación de proteínas por acción de quinasas. Es posible que la adenosina ejerza cambios en la permeabilidad celular como consecuencia de la activación de receptores, estimándose que además puede afectar la disponibilidad del calcio intracelular.

minada respuesta, pero aún así es posible encontrar dificultades derivadas de diferentes sensibilidades de tejidos. Williams (17) ha propuesto el orden de potencia que se muestra en la Tabla I.

Tanto los receptores A_1 como los A_2 pueden ser bloqueados por metilxantinas, estimándose que la 8-fenilteofilina es de mayor selectividad, ya que posee una menor capacidad inhibitoria de la fosfodiesterasa. Estudios más recientes indican que la 1,3-dipropil-8 (2-amino-4-cloro) fenilxantina es un antagonista más selectivo de los receptores A_1 , en tanto que el derivado triazoloquinazolina, CGS 15943 A, es más selectivo a nivel de los receptores A_2 (23).

Del esquema de agonistas de receptores (Tabla I) se puede apreciar que no existen derivados selectivos para los receptores A_2 , y el agonista más activo sobre estos receptores, NECA, puede también activar A_1 . Sin embargo, es corriente que para definir un efecto derivado de la actividad agonista sobre receptores A_2 se comparen los resultados obtenidos en un determinado tejido o preparación frente a la administración de NECA y CHA, de modo que si con el primero aparecen respuestas que no ocurren con CHA, se acepta la posibilidad de que ellas derivan de la estimulación de receptores A_2 .

ACCIONES FISIOLÓGICAS DE ADENOSINA

Gran parte de las observaciones referentes al rol cumplido por el nucleósido se encuentran basadas en el estudio de la administración exógena de adenosina en distintas situaciones experimentales. Este enfoque lleva el riesgo de que los resultados puedan no

ser otra cosa sino acciones farmacológicas independientes del papel funcional del neuromodulador. Sin embargo, los resultados obtenidos mediante la administración de antagonistas de la desaminasa de la adenosina pueden llevar a una mejor comprensión de los posibles efectos ejercidos por la actividad del nucleósido endógeno.

Efectos en algunas sinapsis periféricas

La acción de adenosina sobre estructuras sinápticas ha sido estudiada en preparaciones relativamente simples como el ganglio cervical superior de la rata. Este tejido es fácilmente aislado y mantenido *in vitro* por horas, considerándose apropiado para estudios bioquímicos y electrofisiológicos. En este ganglio se ha estudiado la acción del calcio en neuronas postganglionares, ya que este ion contribuye aquí en forma muy marcada al potencial de acción. El registro de la actividad eléctrica intracelular en presencia de tetrodotoxina y de tetraetilamonio, para el bloqueo de los canales de sodio y de potasio, permite la observación de una espiga de calcio (24, 25), que es inhibida por la aplicación de adenosina en forma reversible. De igual modo, la hiperpolarización que sigue al potencial de acción es reducida considerablemente, encontrándose constituida principalmente por una corriente de potasio dependiente de calcio. Este efecto de adenosina sobre la hiperpolarización es reproducido por agonistas como L-PIA, 2-cloroadenosina, AMPc y 5'AMP, siendo potenciado por la acción del dipiridamol. Estas acciones fueron prácticamente suprimidas mediante el uso de teofilina (26). Cabe señalar que los efectos del AMPc fueron inhi-

TABLA I
Potencia relativa de los análogos de adenosina

Acción Agonista sobre Receptores A_1 (R_1)	CPA $\geq$ CHA $>$ R-PIA $\geq$ 2-CADO $\geq$ NECA $>$ S-PIA $>$ CV-1808
Acción Agonista sobre Receptores A_2 (R_2)	NECA $>$ MECA=2-CADO $>$ CV-1808= R-PIA $>$ CPA $\geq$ S-PIA

CPA ciclopentiladenosina, CHA ciclohexiladenosina, R-PIA R-fenilisopropiladenosina, 2-CADO 2-cloroadenosina, NECA N-etilcarboxamidoadenosina, S-PIA S-fenilisopropiladenosina, CV-1808 2-fenilaminoadenosina, MECA análogo metilado de NECA.

Generalmente la relación de potencia de los análogos R y S de PIA es mayor de 10 (en algunos casos 100-200 veces) en los receptores A_1 y menos de 10 en los receptores A_2 .

bidos por la administración de adenosina desaminasa, enzima de alta especificidad para el nucleósido, de modo que está claro que los efectos del AMPc son producidos por su metabolización a adenosina. Por otra parte, se sabe que la adenosina no estimula la síntesis de AMPc en los ganglios simpáticos (27).

La inducción de efectos presinápticos en los ganglios mediante la administración de adenosina ha quedado demostrada por la inhibición del potencial nicotínico en esta preparación de ganglio cervical de la rata, acción inhibitoria que no va acompañada de efectos antagonistas sobre las respuestas colinérgicas. Posiblemente esta inhibición presináptica sea el resultado de la disminución de la liberación del neurotransmisor.

Efectos en sinapsis centrales

La acción de adenosina sobre neuronas corticales consiste en la inducción de hiperpolarización, lo que se logra mediante la aplicación ionoforética del nucleósido o de 5'-AMP. Los resultados más significativos consisten en reducción de las respuestas evocadas por la estimulación de zonas vecinas a la célula cuya actividad se encuentra en registro. Tanto adenosina como 5'-AMP no inducen efectos directos en las neuronas, ya que un estímulo aplicado en el cuerpo neuronal produce un potencial de acción semejante en ausencia y presencia de los derivados purinérgicos. Estos resultados sugieren que el efecto en la corteza cerebral es en sitios presinápticos, disminuyendo la liberación de neurotransmisores (28). Al igual que en los experimentos realizados en ganglios, los efectos de los nucleótidos ensayados fueron potenciados por inhibidores de la captación de adenosina y por la acción de inhibidores de la desaminasa. Por otra parte, los análogos metilénicos de ADP y ATP, que son resistentes a la hidrólisis y por lo tanto no forman adenosina, son inactivos en la excitabilidad cortical.

En el hipocampo tanto *in vivo* como *in vitro* la adenosina exógena induce efectos en concentraciones semejantes a las logradas por la liberación inducida por estimulación; estudios diversos sugieren que su ac-

ción se ejercería inhibiendo las respuestas sinápticas. En esta estructura nerviosa existe una buena correlación entre la distribución de la 5'-nucleotidasa y los sitios receptores, así como con la liberación del nucleósido (29). Los mecanismos comprometidos en los efectos observados son la activación de la conductancia de potasio y la inhibición de las espigas neuronales dependientes de calcio. Aunque no se encuentra aclarada la interrelación de los efectos detectados en estos iones, no es posible descartar una acción directa de adenosina sobre las corrientes de calcio con una consecuente modificación de las corrientes de potasio.

Los posibles receptores comprometidos en los efectos descritos serían del tipo A_1 , pues existe un orden de potencia de agonistas similar, tanto en la inhibición de los potenciales sinápticos en estructuras del hipocampo como en el desplazamiento de la unión de CHA tritiada en membranas neuronales (30). Se ha sugerido un rol neuromodulador de adenosina en esta estructura nerviosa, pensándose que actúa en la presinapsis, ya sea inhibiendo la liberación de neurotransmisores o bien afectando la excitabilidad neuronal en estructuras postsinápticas.

EFFECTOS EN EL CORAZON

La adenosina extracelular en el miocardio puede originarse por difusión facilitada desde las células musculares o por la metabolización del ATP liberado desde las fibras nerviosas o del tejido muscular. Se estima que las concentraciones extracelulares de adenosina aumentan como consecuencia de la isquemia, hipoxia o de los mayores requerimiento metabólicos del miocardio (31).

Adenosina comparte algunos efectos del ATP y da lugar a inotropía negativa actuando sobre receptores A_1 (32). En ventrículos y en aurículas aislados de cobayo, adenosina no reduce el incremento del AMPc que inducen las catecolaminas, por lo que se ha concluido que la estimulación de receptores A_1 posiblemente altere la función de los canales de calcio actuando independientemente de la adenilciclase (33). Estos efectos difieren en el músculo cardíaco de

la rata, ya que en éste la adenosina reduce significativamente el aumento de AMPc inducido por isoproterenol, disminuyendo también la incorporación de ^{32}P en algunas proteínas del corazón perfundido (34). Estos resultados son consistentes con el conocimiento de que la activación de receptores A_1 antagoniza los efectos inótrópos positivos de catecolaminas en el músculo cardíaco de la rata, generando simultáneamente una disminución de la adenilciclase. A su vez la disminución del AMPc reduce la actividad proteínquinasa dependiente de AMPc, inhibiendo la fosforilación de canales de calcio. El efecto final es la reducción de la entrada de calcio a las células musculares (35).

Se ha supuesto una acción fisiológica de adenosina en el corazón de rata que funciona con un aporte de oxígeno en rangos normales, ya que en esas circunstancias la perfusión cardíaca con desaminasa de adenosina intensifica el incremento de la presión ventricular izquierda inducido por isoproterenol (36). Existen evidencias experimentales en cuanto a la inducción de efectos dromótrópos negativos en los nódulos sinusal y aurículo ventricular, estimándose que el nucleósido sea el mediador primario de los efectos de la hipoxia en la conducción aurículo-ventricular. Estos efectos son antagonizados ya mediante la administración de la desaminasa de adenosina como con el uso de antagonistas de receptores P_1 (37).

VASOS SANGUÍNEOS

En la gran mayoría de los vasos sanguíneos el efecto de adenosina consiste en dilatación. El agonista purinérgico proviene de la metabolización de nucleótidos y de difusión facilitada desde células adyacentes. Estos efectos relajadores son mediados, como muchos efectos en músculo liso, por receptores A_2 , existiendo una buena correlación entre la síntesis de AMPc en el músculo liso y la acción relajadora (38). Por otra parte existen evidencias en el sentido de que la adenosina puede modular la neurotransmisión adrenérgica en vasos sanguíneos. Este efecto se ejerce a través de inhibición de la

liberación de noradrenalina desde las terminaciones adrenérgicas (39).

En la circulación coronaria la adenosina liberada desde el músculo cardíaco o desde el endotelio de los vasos ejerce importantes funciones en la regulación del flujo coronario. Al parecer existe también la posibilidad de que, en parte, la adenosina provenga del ATP existente en el músculo cardíaco, el que una vez liberado es metabolizado extracelularmente. La sensibilidad de los vasos coronarios parece ser mayor en los vasos coronarios de menor calibre (40, 41).

EFFECTOS EN MUSCULOS LISOS NO VASCULARES

Bronquios

Adenosina es un potente broncoconstrictor en asmáticos con o sin antecedentes alérgicos (42) y se sabe además que el broncoespasmo inducido por alérgenos está asociado a concentraciones plasmáticas elevadas de adenosina (43). Los efectos broncoconstrictores parecen estar mediados por receptores específicos, teniendo una actividad comparable a la de adenosina el ATP y el ADP; en tanto que son inefectivas la inosina y la guanosina. Los efectos broncoconstrictores son inhibidos por la teofilina, habiéndose sugerido que las acciones broncodilatadoras de ésta sean el resultado del antagonismo señalado. Existen, sin embargo, otros posibles mecanismos mediante los cuales podría ejercer efectos broncoconstrictores; es así como se ha mencionado la liberación de mediadores de reacciones alérgicas desde los mastocitos (44) y aun la posibilidad de actuar directamente en el músculo liso bronquial de asmáticos. Farmer *et al.* (45) han propuesto la existencia en la tráquea de cobayo de receptores A_1 , los que al ser activados dan origen a contracción, y de receptores A_2 que producen efectos relajadores. Las respuestas contráctiles pueden ser inhibidas por antagonistas de adenosina, pero no por la enprofilina, fármaco de acciones relajadoras superiores a las de aminofilina; esto sugiere que los efectos directos sobre los músculos de las vías respiratorias serían los responsables de la utilidad clínica de xantinas en el tratamiento del asma bronquial (45).

Taenia coli

En *taenia coli* de cobayo tanto la adenosina como el ATP inducen efectos relajadores. Los efectos de adenosina se ejercerían, al parecer, por una acción hiperpolarizante lenta mediada por receptores A_2 y comprometiendo la acción de canales de potasio insensibles a apamina. Los efectos son antagonizados por 8-fenilteofilina, en tanto que el dipiridamol ejerce acciones sinérgicas (46, 47).

Ileon de cobayo

En el íleon de cobayo tanto el ATP como la adenosina producen efectos inhibitorios que parecen ser ejercidos por disminución de la liberación de acetilcolina. Se ha propuesto que esta acción ocurre vía activación de receptores A_1 sobre neuronas colinérgicas del plexo mientérico (48, 49). Los efectos de ATP, en parte, parecen estar mediados por su transformación en adenosina, pero también es posible una acción directa, lo que ha sido sugerido también para el 5'-AMP en receptores A_1 (50).

Conducto deferente

Existen evidencias en favor de la existencia de receptores P_1 del subtipo A_1 en las terminaciones adrenérgicas del *vas deferens* de cobayo. Adenosina exógena produce inhibición, reversible y dependiente de la dosis, de la liberación de noradrenalina tritiada inducida por la estimulación transmural del conducto *in vitro* (51). Por otra parte, la 8-fenilteofilina, antagonista P_1 , suprime las acciones de la 2-cloroadenosina en el conducto estimulado eléctricamente (52). No existe, al parecer, una acción moduladora endógena que se exprese a través de un efecto tónico en el *vas deferens*, ya que la 8-fenilteofilina no incrementa las respuestas contráctiles en ausencia de cloroadenosina.

Funciones similares a las descritas para ATP y adenosina se han señalado en *vas deferens* de animales de otras especies, pero la mayoría de los estudios realizados corresponden al efecto del ATP y análogos que actúan sobre receptores P_{2x} (53).

En resumen, los efectos en los músculos lisos mencionados, a los que es necesario agregar la vejiga urinaria, son mediados principalmente por interacción con receptores A_1 , de ubicación presináptica (íleon, conducto deferente, vejiga) (54), en tanto que las acciones relajadoras que se observan en *taenia coli*, en algunos vasos sanguíneos y, posiblemente, en músculos lisos del tracto respiratorio serían producidas por estímulo de receptores A_2 .

EFECTOS EN ESTOMAGO

Existen evidencias directas e indirectas sobre el compromiso de adenosina en los procesos que controlan la secreción de ácido clorhídrico en la mucosa gástrica. Trabajos *in vitro* señalan la existencia de un papel regulador de la secreción basal y de la estimulada por histamina en el estómago (55); es así como la cloroadenosina y la R-PIA son inhibidores de la secreción de HCl inducida por histamina en células de una preparación *in vitro*, siendo de menor potencia la NECA. La adenosina no altera la secreción inducida por el dibutilil derivado del AMPc, lo que descarta una acción directa sobre el AMPc. Parece, por lo tanto, que sus efectos son producidos por interacción con receptores acoplados a la adenilciclase (56). Los mecanismos propuestos para explicar la acción inhibidora comprenden el aumento de producción de prostaglandinas y la disminución de la producción de gastrina, aunque los resultados en relación a esta última han sido contradictorios. Se ha postulado también una disminución de la liberación de histamina y acetilcolina (57).

EFECTOS RENALES

Los efectos renales comprenden tanto la acción moduladora sobre los vasos sanguíneos como la acción sobre la renina. La acción en los vasos consiste en respuestas dilatadoras y constrictoras (58). En atención a la potencia relativa de diversos análogos de adenosina y a la respuesta a antagonistas se ha establecido que la

vasodilatación es mediada por receptores A_2 en las arteriolas aferentes y en las eferentes, mientras que los efectos vasoconstrictores comprometen receptores A_1 (58, 59). La función de estos últimos posiblemente se encuentre comprometida en el desarrollo de isquemia renal.

Se ha señalado que la secreción de renina está controlada parcialmente por adenosina. Es así como se ha descrito inhibición por interacción con receptores A_1 , en tanto que la estimulación de receptores A_2 produce el efecto opuesto. Los experimentos para establecer estas acciones se han realizado en cortes renales *in vitro*, de modo que ello ha permitido descartar la influencia de acciones hemodinámicas (60).

LIPOCITOS

La clasificación inicial de Londos y Wolff (14) de los diferentes receptores que conocemos como A_1 , A_2 fue hecha a partir de trabajos que se efectuaron en tejido adiposo. La adenosina inhibe la lipólisis presumiblemente por activación de receptores A_1 (orden de potencia de mayor o menor, L-PIA, adenosina, NECA). Se sabe también que la liberación basal de adenosina desde las células adiposas puede dar lugar a activación de receptores A_1 . Se conoce también que la estimulación eléctrica de los vasos que irrigan el tejido graso junto con la vasoconstricción produce lipólisis y liberación de adenosina o purinas marcadas. La administración de adenosina produce relajación de vasos sanguíneos y disminución de la lipólisis inducida por estímulos adrenérgicos. En cuanto a la posibilidad de que la adenosina ejerza alguna acción basal, los experimentos han mostrado una modesta relajación de los vasos de resistencia, pero no se han detectado efectos sobre la lipólisis. Sin embargo, se estima que durante períodos de actividad adrenérgica prolongada podría incrementarse la concentración extracelular de adenosina, llegándose a niveles que pueden efectivamente modular la lipólisis (61).

ACCIONES SEDANTES Y ANTICONVULSIVANTES DE ADENOSINA Y ANALOGOS

A partir de los trabajos de Daly (62) se sabe que los efectos de metilxantinas en el SNC tienen muy poco que ver con la actividad inhibidora de la fosfodiesterasa, ya que las concentraciones con las que es posible detectar sus acciones se correlacionan más bien con la inhibición de la adenosina (63). Se ha comprobado que en el tejido nervioso la unión de adenosina se efectúa en receptores A_1 y A_2 . Como se señaló al describir las acciones fisiológicas del derivado purinérgico, diversos efectos electrofisiológicos demuestran que las xantinas actúan antagonizando las acciones de adenosina endógena. En relación con las propiedades anticonvulsivas, se sabe que inhibe la actividad epileptiforme *in vitro* (64) y se ha demostrado que normalmente se liberan cantidades suficientes desde el hipocampo, las que deprimen la actividad electrofisiológica en forma tónica (65). Debido a que los efectos excitatorios de varios derivados xantínicos se correlacionan con sus potencias antagonistas de adenosina, es posible atribuir los efectos de metilxantinas al antagonismo de la acción depresora de la adenosina liberada endógenamente. La existencia de análogos resistentes a la metabolización por acción de la desaminasa de adenosina ha permitido establecer varios efectos en animales intactos, como también lograr una definición más exacta de los cambios fisiológicos en que se encuentra comprometida la liberación de este modulador. Los efectos que se describen a continuación corresponden a resultados que Dunwiddie y Worth (66) han descrito para diversos agonistas P_1 . Es así como tanto la L-PIA como la CHA y cloroadenosina inyectadas en ratones en dosis de 2 mg/kg producen casi total inmovilidad, con mantención de los reflejos posturales, pero al mismo tiempo con menor intensidad de respuesta a estímulos externos. Estos efectos se acompañan de notable piloerección y enrojecimiento de orejas y cola. El empleo de diferentes dosis mostró una buena relación dosis-efecto en cuanto a disminución de la actividad motora y descenso de la temperatura cor-

poral. Los mayores efectos correspondieron a L-PIA, siguiendo luego la CHA y la cloroadenosina. Cabe señalar que la acción hipotermizante y la disminución de la actividad motora fueron antagonizadas por teofilina. Estos agonistas prolongaron el tiempo de latencia a las convulsiones inducidas por el pentilentetrazol, mostrando la mayor actividad L-PIA, seguida por cloroadenosina y CHA.

En un intento para determinar la característica de la acción anticonvulsiva de los tres agonistas purinérgicos, se estudió la prolongación de la latencia a las convulsiones inducidas por pentilentetrazol, estriquina, ácido kaínico, ácido 3-mercapto propiónico y picrotoxina. Tanto la CHA como la cloroadenosina mostraron acciones anticonvulsivas similares, con mayor efectividad frente a picrotoxina y con efectividad menor para prolongar la latencia a los otros convulsivantes. La L-PIA mostró una efectividad mayor que CHA y cloroadenosina, salvo frente a picrotoxina, en que su acción fue de menor magnitud. Cabe señalar que la acción de L-PIA fue aproximadamente 20 veces superior a la encontrada para D-PIA, diferencia de potencia característica para las acciones que derivan de estimulación de receptores A_1 (67).

Diversas evidencias experimentales han sugerido que existe alguna relación entre los efectos de purinas y de benzodiazepinas. Ambos grupos comparten acciones sedantes, hipnóticas, anticonvulsivas e hipotermizantes. Los experimentos electrofisiológicos indican que las benzodiazepinas pueden potenciar efectos de adenosina inhibiendo la recaptación y, además, se ha sugerido que los efectos de estos ansiolíticos pueden ser atribuidos en parte a aumento de la adenosina extracelular (68). Al comparar las acciones de diazepam con adenosina se apreció poca relación entre las acciones anticonvulsivas de esos agonistas purinérgicos y las de diazepam. Por otra parte, L-PIA resultó más potente que el diazepam en la inducción de hipotermia y sedación, siendo por el contrario el diazepam de mayor potencia como anticonvulsivo, especialmente en la protección de la mortalidad inducida por el pentilentetrazol.

MECANISMO DE ACCION DE ADENOSINA

Efectos dependientes de la ocupación de receptores A_1 .

Los diversos intentos de explicación de los efectos de adenosina sobre estos receptores coinciden en mencionar la participación del calcio iónico en los mecanismos específicos de acción.

Una posibilidad ha sido señalada por Fenton y Dobson (34) y Dobson *et al.* (36), quienes han trabajado con músculo cardíaco de rata. En este tejido la adenosina disminuye el efecto de catecolaminas, entre ellas el isoproterenol, consistente en elevación de la concentración de AMPc. Además la adenosina disminuye la incorporación de ^{32}P , estimulada por isoproterenol, en ciertas proteínas del corazón de rata perfundido. Estos antecedentes han llevado a sugerir que el nucleósido antagoniza el efecto de catecolaminas en el corazón de rata, uniéndose a receptores A_1 , los que acoplados a la proteína N_i dan lugar, al ser activados, a inhibición de la síntesis de AMPc. Esta disminución de AMPc a su vez atenúa los procesos de fosforilación de canales de tipo L, reduciendo con ello la entrada de calcio (35).

Se ha sugerido, por otra parte, un efecto directo de adenosina sobre canales de calcio. Ribeiro *et al.* (69) demostraron que la adenosina disminuye la captación de calcio inducido por despolarización con potasio en sinaptosomas de cerebro de rata. La inhibición de la captación de calcio daría lugar a inhibición de la liberación de neurotransmisores. Esta posibilidad ha sido igualmente estudiada utilizando sinaptosomas provenientes de plexo mientérico de cobayo (70), preparación en la que se apreció disminución de la liberación de acetilcolina inducida por potasio y por estimulación eléctrica.

En general se acepta la posibilidad de que no todos los procesos de inhibición de la liberación de neurotransmisores sean idénticos en los diversos tipos de sinapsis. Es así como se ha propuesto un mecanismo inhibidor en la placa motora consistente en la unión de la adenosina a receptores A_1 , de ubicación extracelular, y, co-

mo consecuencia de esta unión, una transformación en la configuración de proteínas de la membrana celular que eventualmente se fusionan con las proteínas de los sinaptosomas que contienen acetilcolina. Como consecuencia de esta unión de adenosina a los receptores, el cambio más importante de la membrana sería la modificación de los dominios que tienen por función la captación del calcio intracelular y la consecuente neutralización de las cargas eléctricas que impiden la fusión de la membrana de las terminaciones nerviosas con las vesículas llenas de neurotransmisor. Se comprende que al quedar el calcio libre en el interior de la terminación, se crean condiciones que impiden el acercamiento de las vesículas sinápticas y todo el proceso de liberación. Esta hipótesis que plantea el antagonismo del calcio intracelular como consecuencia de la unión de adenosina a receptores extracelulares ha sido sugerida en virtud de que la adenosina todavía es capaz de antagonizar la liberación del neurotransmisor en condiciones en que se ha procedido a incrementar el calcio intracelular sin utilizar los canales iónicos específicos (empleo de liposomas que contienen calcio, los que penetran por difusión a las terminaciones) (71, 72). Los mecanismos comprometidos en el antagonismo calcio-adenosina se entienden mejor si se recuerda que este ion cumple funciones múltiples en las terminaciones nerviosas. Es así como participa en el almacenamiento vesicular, reduce la distancia existente entre vesículas y membranas y suprime la barrera electrostática que separa las vesículas de las proteínas constituyentes de la terminación nerviosa (71).

Efectos dependientes de la ocupación de receptores A_2 .

Las respuestas inducidas por receptores A_2 son generalmente de naturaleza postsináptica, produciéndose una hiperpolarización asociada a un incremento de la conductancia al potasio tanto en células cardíacas (73) como en neuronas del hipocampo (74). En oocitos de *Xenopus laevis* se ha informado de la existencia de una corriente evocada por purinas (denominada corriente H), de la cual el componente mayor está consti-

tuido por la salida de potasio de la célula. La generación de esta corriente se ha atribuido a activación de receptores A_2 cuyo resultado inmediato es un aumento de la síntesis de AMPc. En esta preparación de *X. laevis* el orden de potencia de agonistas purinérgicos es NECA adenosina, L-PIA, en orden decreciente, en concordancia con la sensibilidad de receptores A_2 . Los efectos de los agonistas purinérgicos son inhibidos por la administración extracelular de teofilina en una concentración apropiada para el antagonismo de receptores P_1 . En cambio, la administración intracelular de teofilina en concentraciones altas, que inhiben la fosfodiesterasa, induce un incremento de la corriente de potasio. En consecuencia, los resultados apoyan la hipótesis general de que el AMPc pueda ser el segundo mensajero en una serie de procesos celulares que llevan a la apertura de los canales de potasio. Por último, cabe recordar que los procesos que comprometen acciones de adenosina no siempre se encuentran ligados a cambios en la concentración intracelular del AMPc (75).

Proyecto: 20.33.29. Dirección Investigación Universidad de Concepción y 0699-90 FONDECYT.

REFERENCIAS

1. DRURY, A.N.; SZENT-GYORGYI, A. (1929) *J. Physiol. Lond.* 68: 213-217.
2. FELDBERG, W.; SHERWOOD, S.L. (1954) *J. Physiol. Lond.* 123: 148-167.
3. SATTIN, A.; RALL, T.W. (1970) *Mol. Pharmacol.* 6: 13-23.
4. SNYDER, S.H.; KATIMS, J.J.; ANNAU, Z.; BRUNS, R.F.; DALY, J.W. (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78: 3260-3264.
5. SKOLNICK, P.; MARANGOS, P.J.; GOODWIN, F. K.; EDWARDS, M.; PAUL, S. (1978) *Life Sci.* 23: 1473-1480.
6. CRAWLEY, J.N.; PATEL, J.; MARANGOS P.J. (1981) *Life Sci.* 29: 2623-2630.
7. ROVETTO, M.J. (1985) *Annu. Rev. Physiol.* 47: 605-615.
8. BUKOSKI, R.D.; SPARKS, H.V.; MELA, L.M. (1983) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 113: 990-995.
9. BURNSTOCK, G. (1972) *Pharmacol. Rev.* 24: 509-581.
10. PEARSON, J.D.; CARLTON, J.S.; GORDON, J.L. (1980) *Biochem. J.* 190: 421-429.
11. BENDER, A.S.; WU P.H.; PHILLIS, J.W. (1981). *J. Neurochem.* 36: 651-660.
12. PEARSON, J.D.; CARLTON J.S.; HUTCHINGS, A.; GORDON, J.L. (1978) *Biochem. J.* 170: 265-271.

13. PONS, F.; BRUNS, R.F.; DALY, J.W. (1980) *J. Neurochem.* 34: 1219-1323.
14. NEWMAN, M.E.; MC ILWAIN, H. (1977) *Biochem. J.* 164: 131-137.
15. HARNES, H.H.; WARDEH, G.; MULDER, A.H. (1978) *Eur. J. Pharmacol.* 49: 305-308.
16. FREDHOLM, B.B.; DUNWIDDIE, T.V.; BERGMAN, B.; LINDSTROM, K. (1984) *Brain Res.* 295: 127-136.
17. BERNE, R.M. (1963) *J. Physiol. Lond.* 204: 317-322.
18. DRAGUNOW, M.; GODDARD, G.V.; LAVERTY, R. (1985) *Epilepsia* 26: 480-487.
19. BURNSTOCK, G. (1978) *Cell and membrane receptors for drugs and hormones: a multidisciplinary approach*. Bolis, L. & Straub, R.W., Eds. pp. 107-118. Raven Press, New York.
20. LONDOS, C.; WOLF, T. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74: 5482-5486.
21. VAN CALKER, D.; MULLER, M.; HAMPRECHT, B. (1979) *J. Neurochem.* 33: 999-1005.
22. STONE, T.W. (1985) *Purines: Pharmacology and Physiological roles*. Macmillan, Lond.
23. WILLIAMS, M. (1987) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 27: 315-345.
24. HORN, J.P.; Mc AFEE, D.A. (1980) *J. Physiol., Lond.* 301: 191-204.
25. ADAMS, P.R.; GALBAN, M. (1981) *J. Physiol. Lond.* 318: 41-42.
26. HENON, B.K.; Mc AFEE, D.A. (1983) *J. Physiol., Lond.* 336: 607-620.
27. ROCH, P.; KALIX, P. (1975) *Biochem. Pharmacol.* 24: 1293-1296.
28. PHILLIS, J.W.; WU, P.H. (1981) *Progr. Neurobiol.* 16: 187-239.
29. SCHUBERT, P.; KOMP, W.; KREUTZBERG, G.W. (1979) *Brain Res.* 168: 419-424.
30. REDDINGTON, M.; LEE, K.S.; SCHUBERT, P. (1982) *Neurosci. Lett.* 28: 275-279.
31. SPARKS, H.V. (1986) *Circulation Res.* 58: 193-201.
32. MOODY, C.J.; MEGHJI, P.; BURNSTOCK, G. (1984) *Eur. J. Pharmacol.* 97: 47-54.
33. CAPARROTTA, L.; FASSINA, G.; FROLDI, G.; POJA, R. (1987) *Br. J. Pharmacol.* 90: 23-30.
34. FENTON, R.A.; DOBSON, J.G. (1984) *Am. J. Physiol.* 246: H559-H565.
35. ARMSTRONG, D.; ECKERT, R. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84: 2518-2522.
36. DOBSON, J.G.; ORDWAY, R.W.; FENTON, R.A. (1986) *Am. J. Physiol.* 251: H455-H462.
37. CLEMO, H.F.; BELARDINELLI, L. (1986) *Circulation Res.* 59: 437-446.
38. EDVINSSON, L.; FREDHOLM, B.B. (1983) *Brit. J. Pharmacol.* 80: 631-637.
39. SU, C. (1983) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23: 397-411.
40. VAN BELLE, H.; GOOSENS, F.; WAYNANTS, J. (1987) *Am. J. Physiol.* 252: H886-H893.
41. FREDHOLM, B.B.; SOLLEVI, A. (1986) *Clin. Physiol.* 6: 1-21.
42. CUSHLEY, M.J.; TATTERSFIELD, A.E.; HALGATE, S.T. (1983) *Am. Rev. Resp. Dis.* 129: 380-384.
43. MANN, J.S.; HOLGATE, S.T.; RENWICK, A.G.; CUSHLEY, M.J. (1986) *J. Appl. Physiol.* 61: 1667-1676.
44. CHURCH, M.K.; BENYON, R.C.; HUGHES, P.J.; CUSHLEY, M.J.; MANN, J.S.; HOLGATE, S.T. (1985) *Purines: Pharmacology and Physiological roles*. Stone T.W. Ed. pp. 175-184. Macmillan, London.
45. FARMER, S.G.; CANNING, B.J.; WILKINS, D.E. (1988) *Brit. J. Pharmacol.* 95: 371-378.
46. Den HERTOOG, A.; PIELKENROOD, J.; Den AKKER, J. (1985) *Eur. J. Pharmacol.* 109: 373-380.
47. BURNSTOCK, G.; HILLS, J.M.; HOYLE, C.H.V. (1984) *Brit. J. Pharmacol.* 81: 533-541.
48. REESE, J.H.; COOPER, J.R. (1982) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 223: 612-616.
49. WATT, A.J. (1982) *Brit. J. Pharmacol.* 77: 725-730.
50. MOODY, C.J.; MEGHJI, P.; BURNSTOCK, G. (1984) *Eur. J. Pharmacol.* 97: 47-54.
51. HEDQVIST, P.; FREDHOLM, B.B. (1976) *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 293: 217-223.
52. SNEDDON, P.; WESTFALL, D.P.; COLBY, J.; FEDAN, J.S. (1984) *Life Sci.* 35: 1903-1912.
53. AMOBI, N.; SMITH, C.H. (1987) *Eur. J. Pharmacol.* 133: 75-82.
54. CALLAHAN, S.M.; CREED, K.E. (1981) *Br. J. Pharmacol.* 74: 353-358.
55. GERBER, J.G.; NIES, A.S.; PAYNE, N.A. (1985) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 623-627.
56. HELDSINGER, A.A.; VINIK, A.I.; FOX, I.H. (1986) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 237: 351-356.
57. WESTERBERG, V.S.; GEIGER, J.D. (1988) *Trends Pharmacol. Sci.* 9: 345-347.
58. MURRAY, R.D.; CHURCHILL, P.C. (1985) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232: 189-193.
59. KENAKIN, T.P.; PIKE, N.B. (1987) *Brit. J. Pharmacol.* 90: 373-381.
60. CHURCHILL, P.C.; CHURCHILL, M.C. (1985) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232: 589-594.
61. FREDHOLM, B.B.; SOLLEVI, A. (1985) *Purines: Pharmacology and Physiological roles*. Stone T.W. Ed. pp. 223-232. Macmillan, London.
62. DALY, J.W. (1977) *Cyclic nucleotides in the nervous system*. Plenum Press, New York.
63. RALL, T.W. (1975) *En: The Pharmacological Basis of Therapeutics*. A.G. Gilman; L. Goodman; A. Gilman Eds. pp. 367-378. Macmillan.
64. DUNWIDDIE, T.V. (1980) *Epilepsia* 21: 541-548.
65. DUNWIDDIE, T.V.; HOFFER, B.J. (1980) *Brit. J. Pharmacol.* 69: 59-68.
66. DUNWIDDIE, T.V.; WORTH, T. (1982) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 220: 70-76.
67. BRUNS, R.F.; DALY, J.W.; SNYDER, S.A. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77: 5447-5551.
68. CLANACHAN, A.S.; MARSHALL, R.J. (1980) *Brit. J. Pharmacol.* 71: 459-466.
69. RIBEIRO, J.A.; SA-ALMEIDA, A.M.; NAMORADO, J.M. (1979) *Biochem. Pharmacol.* 28: 1297-1300.
70. SHINOZUKA, K.; MAEDA, T.; HAYASHI, E. (1985) *Eur. J. Pharmacol.* 113: 417-424.
71. SILINSKI, E.M. (1986) *Trends Pharmacol. Sci.* 7: 180-185.
72. SILINSKI, E.M. (1984) *J. Physiol., Lond.*, 246: 243-256.
73. HUTTER, O.F.; RANKIN, A.C. (1982) *J. Physiol., Lond.*, 329: 57-58P.
74. SEGAL, M. (1982) *Eur. J. Pharmacol.* 79: 193-199.
75. LOTAN, I.; DASCAL, N.; ORON, Y.; COHEN, S.; LASS, Y. (1985) *Mol. Pharmacol.* 28: 170-177.