

# Los péptidos opioides y la filogenia de la nocicepción

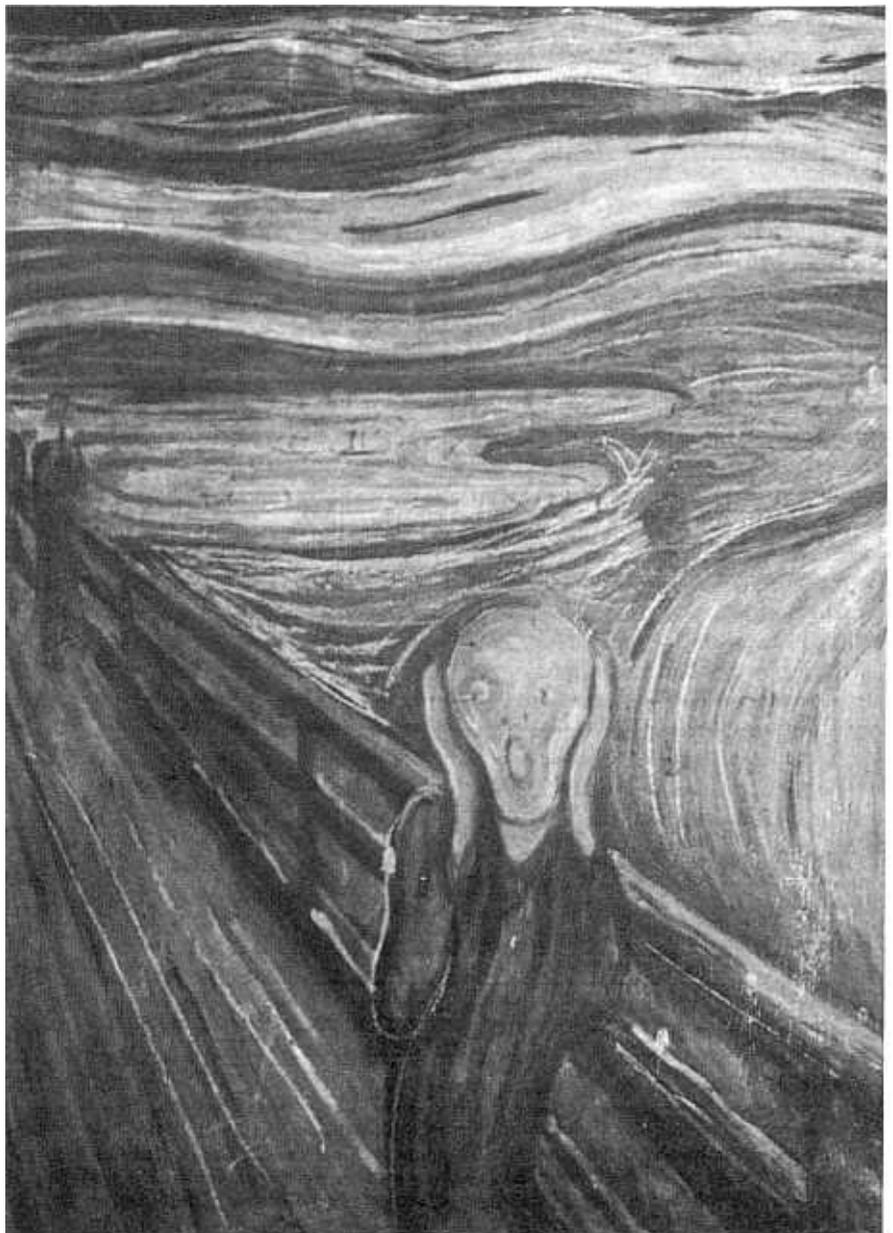
MARTHA LEÓN-OLEA

La habilidad para responder a los estímulos nocivos es una característica básica que tienen todos los animales y que radica en la capacidad para detectar y reaccionar a los estímulos que comprometen su integridad; todo ello se comprende dentro del término de nocicepción. Para que funcione esta capacidad, los organismos emplean receptores específicos, que son estructuras para percibir los estímulos tanto de naturaleza aversiva, llamados nociceptores como los efectores, que son estructuras que responden a la entrada del estímulo aversivo. La respuesta de los efectores depende del tipo de estímulo y, posteriormente, de la decisión central y periférica.

Para los observadores humanos es difícil interpretar el comportamiento animal. Las descripciones de las posturas, movimientos y vocalizaciones que están asociadas con la nocicepción pueden ser contadas objetivamente, pero la interpretación de estas conductas están ligadas a la experiencia humana. Los investigadores que trabajan con animales no humanos consideran que nocicepción y dolor son equivalentes. Sin embargo, la actividad inducida por estímulos nocivos no necesariamente se considera indicativa de dolor. En el humano el estímulo de los nociceptores se percibe como dolor.

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor lo describe como:

**Martha León-Olea:** Laboratorio de Histología y Microscopía Electrónica, División de Neurociencias del Instituto Mexicano de Psiquiatría.



El grito. E. Munch



Tabla

FAMILIA DE PEPTIDOS OPIOIDES		
B-Endorfina (ACTH) (porcina)	Proencefalina (humana)	Prodinorfina (porcina)
<u>B-Endorfina</u>	<u>Met-Encefalina</u>	<u>Alfa-Neo-Endorfina</u>
Tri-Gli-Gli-Phe-Met- Thr-Ser-Glu-Lis-Ser- Gln-Thr-Pro-Leu- Val-Thr-Leu-Phe-Lis- Asn-Ala-Ile-Val-Lis- Asn-Ala-His-Lys- Lis-Gli-Gln	Tir-Gli-Gli-Phe-Met	Tri-Gli-Gli-Phe-Leu- Arg-Lis-Tri-Pro-Iis
	<u>Leu-Encefalina</u>	<u>Beta-Neo-endorfina</u>
	Tri-Gli-Gli-Phe-Leu	Tri-Gly-Gli-Phe-Leu- Arg-Lis-Tir-Pro
	<u>Met-Encefalina-8</u>	<u>Dinorfina A-(1-8)</u>
	Tri-Gli-Gli-Phe-Met Arg-Gli-Leu	Tri-Gli-Gli-Phe-Leu Arg-Arg-Ile
	<u>Met-encefalina-Arg-Phe</u>	<u>Dinorfina A-(1-17)</u>
	Tri-Gli-Gli-Phe-Met- Arg-Phe	Tri-Gli-Gli-Phe-Leu Arg-Arg-Ile-Arg-Pro Lis-Leu-Trp-Asp- Asn-Gln
	<u>Péptido E</u>	<u>Dinorfina B-(1-13)</u>
	Tri-Gli-Gli-Phe-Met- Arg-Arg-Val-Gly-Arg- Pro-Glu-Trp-Trp-Met- Asp-Tir-Gln-Lis-Arg- Tir-Gli-Gli-Phe-Leu	Tir-Gli-Gli-Phe-Leu- Arg-Arg-Gln-Phe-Lis- Val-Val-Thr

y sus receptores, por lo que pueden utilizarse para examinar el papel que juegan tanto en el dolor como en otras funciones biológicas fundamentales como: la regulación de la ingesta de alimentos, regulación de la temperatura corporal, aprendizaje, etcétera.

Como decía anteriormente, la habilidad para responder a los estímulos nocivos es una característica básica de los animales de toda la escala filogenética. Los protozoarios por ejemplo, presentan una conducta aversiva caracterizada por la aceleración o inhibición de la locomoción, cambios en la dirección o en la forma del cuerpo, como respuesta a un estímulo nociceptivo. Sin embargo, todo esto no se considera, en sí, como una respuesta nociceptiva, aunque la membrana tenga zonas especializadas que generan un potencial de receptor que provoca cambios en la actividad de los organelos internos, los que, a su vez, inducen cambios en la locomoción, etc. En los animales unicelulares, como la *Tetrahymena pyriformis* por medio de técnicas como el radioinmunoensayo, se detectó la existencia tanto de la molécula precursora POMC como de la β-en-

dorfina. Resulta interesante este hallazgo ya que sugiere que los protozoarios contienen los genes que codifican un precursor común, similar a los genes que codifican el precursor en los vertebrados. No se sabe qué función puedan tener estos péptidos en los protozoarios, aunque se ha visto que estas sustancias interactúan con los receptores de los vertebrados. Esto sugiere la posibilidad de que tales péptidos puedan funcionar como mensajeros entre los organismos.

Las poríferas (esponjas), presentan un grado más complejo de organización de respuesta a los estímulos nociceptivos que los protozoarios; existen evidencias de una coordinación epitelial (no nerviosa), esto es, por mecanismos químicos, para obtener una respuesta integrada de estas colonias. Su repertorio de conductas es muy limitado, por lo que no se puede decir que sean conductas nociceptivas. Presentan una clara contracción coordinada del cuerpo, en respuesta a una irritación física, que implica un mecanismo de conducción.

En los Cnidarios (Hydrozoa, Scyphozoa, Anthozoa) existe un sistema

nervioso simple, con redes nerviosas y un sistema de conducción eléctrica epitelial. Estos animales presentan una conducta antinociceptiva, caracterizada por la contracción del cuerpo, retirada y una respuesta electrofisiológica a los estímulos nocivos químicos o mecánicos. Las colonias tienen una respuesta defensiva integrada que se propaga, en donde el epitelio conductor juega un papel importante dentro de esta reacción protectora.

A su vez, en las anémonas (Anthozoa) se puede observar una variedad de conductas aversivas, como por ejemplo la agresividad y el ataque hacia los animales subordinados.

Piccoli y col. (1985), en un estudio realizado sobre 11 especies de invertebrados marinos, que incluyen a las esponjas, cnidarios, artrópodos, moluscos y protocordados, determinaron la existencia de unión a receptor opioide y de inmunorreactividad a ME. Sin embargo, faltan aún mayores conocimientos acerca de las funciones en la que participan tales péptidos.

Los platelmintos tienen simetría bilateral, con sistemas más integrados para la locomoción y sensoriales, y un sistema nervioso con un área de integración para coordinar las actividades del organismo. Presentan conductas aversivas a través de mecanismos centrales y periféricos. Estas respuestas son susceptibles de habituarse y eso mismo reduce las conductas aversivas. El desarrollo de la modulación central de los estímulos aversivos y la expresión de la respuesta se puede considerar ya como una conducta nociceptiva.

Los insectos (Arthropoda), además de presentar las conductas de escape, tienen respuestas hormonales en condiciones ambientales de estrés que, en cierta manera, son similares a las respuestas hormonales, que en situaciones de estrés, presentan los mamíferos.

El moscardón, *Protophormia terranova*, cuando se expone a estímulos olfatorios aversivos presenta un incremento gradual en la frecuencia cardiaca (Angioy y col., 1987). La alteración en la frecuencia cardiaca que manifiestan los mamíferos y los pájaros expuestos a estímulos aversivos, se considera como una respuesta al dolor.

Los anélidos cuentan con unas células llamadas células "N", que se consideran como nociceptores. En la lom-

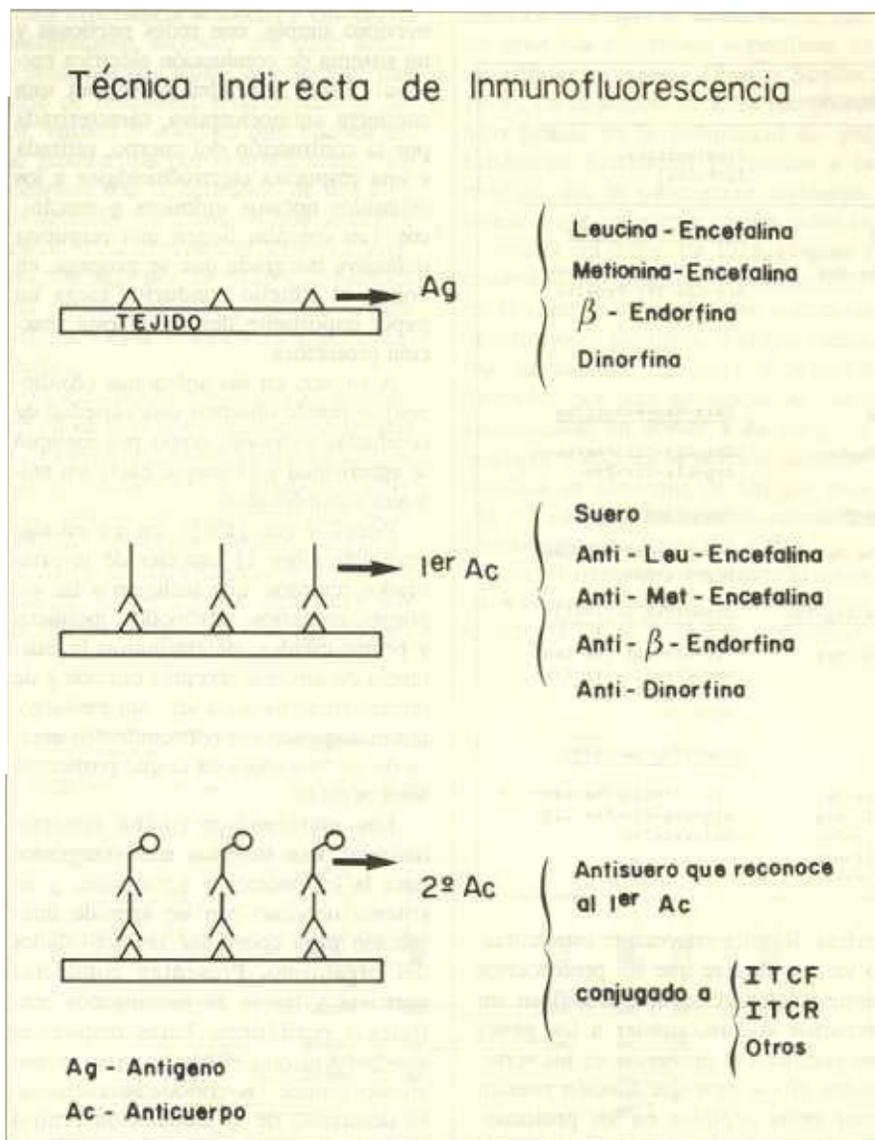


Fig. 2. Esquema donde se muestran los pasos de la técnica indirecta de inmunofluorescencia.

briz de tierra *Lumbricus terrestris*, las respuestas aversivas se pueden modificar con analgésicos narcóticos, como la morfina, de la misma manera que en los mamíferos (Gesser y Larsson, 1986).

Por su parte, los moluscos tienen el sistema nervioso más sofisticado de los invertebrados, sobre todo los cefalópodos, como el *Octopus vulgaris*. Este organismo presenta conductas complejas, capacidad para el aprendizaje y un sistema sensorial muy bien desarrollado. Incluso hay estudios en los que se describen vías o tractos que conducen la información dolorosa (Wells, 1988).

Cuando a un caracol acuático *Cepaea nemoralis*, se le coloca sobre una plancha caliente, a 40°C en pocos se-

gundos se verá que levanta en levantar la parte anterior del pie, lo que es sin duda una respuesta aversiva análoga a la que tienen los roedores cuando se les pone sobre una plancha caliente, a temperaturas de 50-55°C, y que consiste en levantar las patas y tratar de escapar. Esta respuesta aversiva puede cambiar en ambos animales al aplicarse pequeñas dosis de opioides u opiáceos. El tiempo que tarda entonces en manifestarse tal conducta, se alarga, en contraste lo que pasa al aplicarse antagonistas de los opioides como la naloxona, ya que entonces ese tiempo se acorta y es dosis dependiente.

La presencia de conductas aversivas, y las modificaciones a éstas provocadas por la aplicación de péptidos opioides,

se han descrito en peces, crustáceos, reptiles, anfibios, aves y, especialmente en mamíferos. Son similares a las observadas en invertebrados. Estas respuestas aversivas involucran una variedad de sustratos anatómicos y fisiológicos y un mayor grado de complicación en la integración y la coordinación, lo que da como consecuencia un mayor número de discrepancias en la interpretación de los mecanismos con los que se medían las conductas aversivas. Las respuestas a los estímulos nociceptivos reflejan cambios en otras funciones y conductas que están relacionadas con el medio ambiente, sexo, ciclos circádicos, etc.

#### Localización anatómica de los péptidos opioides

Una de la técnicas más utilizada para estudiar la existencia y localización anatómica de los péptidos opioides en lo largo de la escala filogenética, es la de inmunofluorescencia indirecta. Esta técnica consiste en incubar el tejido con anticuerpos contra el péptido opioide a estudiar, los anticuerpos se unen específicamente a los opioides existentes en las células y, posteriormente, se incuban nuevamente el tejido con un segundo anticuerpo, conjugado a una molécula fluorescente, que reconoce y se une al primer anticuerpo. Cuando se examina el tejido en el microscopio de fluorescencia, en las células que contienen opioides se observa una marca fluorescente (figura 2). Los anticuerpos contra opioides que se utilizan se desarrollan generalmente contra opioides sintéticos, con la secuencia de los opioides de mamíferos, por lo que el hallazgo de la marca fluorescente en los tejidos de diferentes especies se describe como inmunorreactividad de tipo opioide.

Esta inmunorreactividad en mamíferos está asociada a estructuras que se sabe que forman parte de las vías relacionadas con la transmisión de la información nociceptiva y a zonas donde se integra esta información, como son: la sustancia gelatinosa de la médula espinal, la sustancia gris periacueductal, el tálamo, la corteza prefrontal medial, el hipotálamo, etc. En diversos trabajos, se ha demostrado que las neuronas que contienen péptidos opioides establecen relaciones sinápticas y tienen

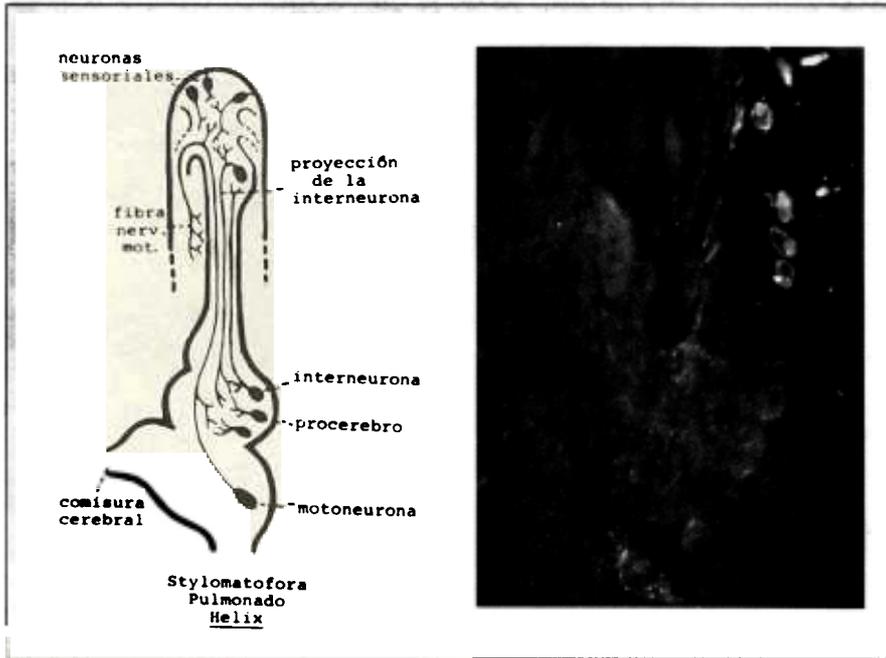


Foto: Martha León-Olea

Fig. 3. A. Esquema que muestra la vía sensorial del tentáculo del *Helix*. B. Corte coronal de ganglio cerebroide del caracol *Helix aspersa*, donde se observan neuronas y fibras inmunorreactivas a leu-encefalina en el procerebro (250 X).

efectos moduladores sobre las neuronas de estas estructuras.

Nuestro grupo se ha interesado por conocer la existencia y distribución anatómica de los péptidos opioides en diferentes especies animales y su relación con algunas funciones. Hemos descrito la distribución anatómica de encefalinas en el ganglio nervioso periesofágico del caracol *Helix aspersa*. En este caso llama la atención la existencia de inmunorreactividad a las encefalinas en las interneuronas de la vía sensorial del tentáculo y en las interneuronas de los ganglios parietales; en esta zona también se integran estímulos sensoriales (figuras 3 y 4). Cuando se administran dosis diarias de morfina, la inmunorreactividad a encefalinas en estas células baja de intensidad o desaparece.

Esto nos habla de una regulación intrínseca en donde están implicados los receptores opioides. Además la inmunorreactividad en estas células tiene una variación estacional: es poco intensa en primavera, muy intensa en verano y otoño y tiende a desaparecer en invierno, lo que sugiere que las variaciones estacionales de la inmunorreactividad, de origen endógeno, pueden ser precipitadas por factores ambientales (León-Olea y col., 1991).

En el anfibio *Ambystoma mexicanum*

demostramos la existencia de inmunorreactividad a opioides en el cerebro y la glándula hipófisis (León-Olea y col., 1991).

En la médula espinal del gato se encontraron fibras encefalinérgicas que establecen contacto con motoneuronas de las astas ventrales. Con esta evidencia morfológica, además de otras evi-

dencias electrofisiológicas, sugerimos una modulación opioide directa sobre la función de estas motoneuronas (Fernandez-Guardiola y col., 1989) (figura 5).

Con los datos anteriores podemos concluir que las investigaciones indican que los péptidos opioides participan en funciones similares en organismos que representan diferentes y distantes grupos taxonómicos. La importancia del dolor como una señal de alarma en casi todos los organismos vivos (véase Pellicer en este mismo número), se hace evidente por la prevalencia de las proteínas ancestrales, como sistemas analgésicos, que prácticamente no han sufrido modificaciones a lo largo de la evolución y que son las que dan origen a estos péptidos opioides. Tales observaciones implican que hubo un desarrollo evolutivo temprano y una continuidad filogenética de estos péptidos y sus receptores.

Resulta evidente que la expresión de conductas antinociceptivas está determinada por varios factores inherentes a cada especie, como lo son la complejidad anatómica, la multiplicidad morfológica y las capacidades fisiológicas; esto tiene como consecuencia expresiones conductuales acordes a la complejidad de los sistemas. Todo lo anterior obliga a los observadores, estudiosos del dolor, a abstraerse de la sola presencia o ausencia de patrones conductuales prototípicos y muchas de las

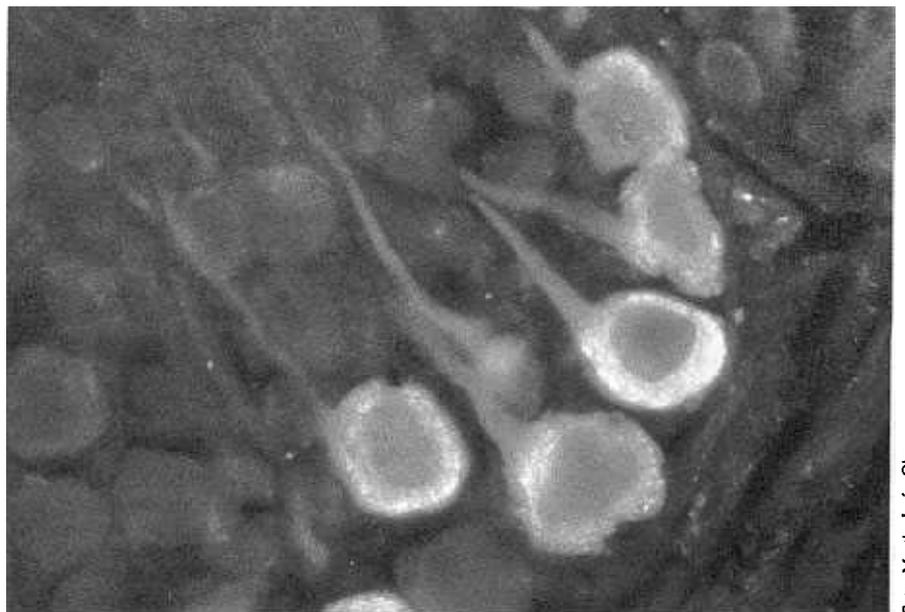


Fig. 4. Grupo de neuronas inmunorreactivas a Leuencefalina en un corte coronal de ganglio parietal del caracol *Helix aspersa* (250 X).

Foto: Martha León-Olea

## NUTRICIÓN

¿La llave de la Salud?

La revista CUADERNOS DE NUTRICIÓN nos ofrece en su número de julio-agosto:

Ambiente familiar y desnutrición

Variedades y beneficios de la tuna

Mitos y realidades de los productos enlatados

y otros temas de interés

Suscribase a

## CUADERNOS DE NUTRICIÓN

Aproveche el descuento especial para estudiantes y maestros durante julio y agosto de 1993, y por sólo N\$50.00 al año recíbala en su domicilio (precio normal de la suscripción anual N\$60.00).

Envíe todos sus datos, fotocopia de su credencial y pago en cheque o giro postal, al Apartado Postal M-8585, CP. 06002, México, D.F.

Para mayor información comuníquese a los teléfonos 515-1939 y 272-6207.

**“usted la leerá y la recomendará”**

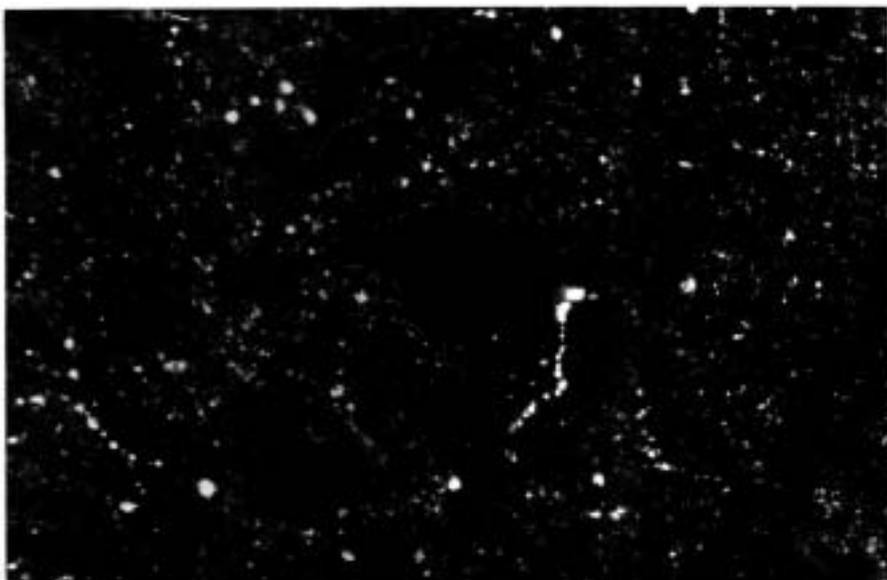


Fig. 5. Corte transversal de médula espinal de gato a nivel lumbosacro. Se observan terminales nerviosas inmunorreactivas a Leu-encefalina, en contacto con motoneuronas de las astas ventrales. (250 X, inmunoperoxidasa, campo obscuro).

veces antropocéntricos, para emitir un juicio más razonado de las conductas antialgésicas, sobre todo en las especies menos evolucionadas. En este sentido tenemos que aprender a resolver la filogenia conductual antialgésica, mediada por los ancestrales péptidos opioides.

### Bibliografía

- Angioy A., T. Barbossa, R. Crnjan, A. Liscia, P. Pietra, "Reflex cardiac response to various olfactory stimuli in the lowfly", *Protophomia terraenovae. Neurosci. Lett.* 81:263-266, 1987.
- Fernández-Guardiola A., F. Pellicer, M. Leon-Olea, M. Asai, M. Sánchez-Álvarez, "Habituation and dehabituation of the spinal polysynaptic reflex responses: modification by naloxone and opiates and their anatomical correlates", *Neuropeptides* 14:115-120, 1989.
- Gesser B., Larsson: L-I, "Enkephalins may act as sensory transmitters in earthworms", *Cell Tissue Res.* 246:33-37, 1986.
- Hughes J., T. Smith, H. Kosterlitz, L. Fothergill, B. Morgan, H. Morris, "Identification of two related peptides from the brain with potent opiate agonist activity", *Nature* 255: 577-579, 1975.
- Kavaliers M., M. Hirst, "Slugs and snails and opiate tales: opioids and feeding behavior in invertebrates", *Fed. Proc.* 46:168-172, 1987.
- León-Olea M., M. Sánchez-Álvarez, A. Piña, A. Bayón, "Evidence for enkephalin- and endorphin-immunoreactive cells in the anterior pituitary of the axolotl *Ambystoma mexicanum*", 305:412-420, 1991.
- Leon-Olea M., M. Sanchez-Álvarez, F. Camacho, "Distribution and seasonal variations of the immunoreactivity to leu- and met-enkephalins in the periesophageal ganglia of the snail *Helix aspersa*", *Soc. Neurosci. Abstr.* 1991.
- LeRoith D., A. Liotta, J. Roth, J. Shiloach, E. Lewis, C. Pert, T. Krieger, "Corticotropin and  $\beta$ -endorphin-like materials are native to unicellular organisms," *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 79:2086-2090, 1982.
- Ling N., R. Burgus, R. Guillemin, "Isolation, primary structure, and synthesis of alpha endorphin and gamma endorphin, two peptides of hypothalamic hypophysial origin with morphinomimetic activity", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73:3942-3946, 1976.
- Lung M., G. Stefano, "Comparative neurobiology of opioids in invertebrates with special attention to senescent alterations," *Progress in Neurobiology* 28:131-159, 1987.
- Pert C., S. Snyder, "Opiate receptor demonstration in nervous tissue", *Science* 179: 1011-1014, 1973. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73:3942-3946, 1976.
- Piccoli R., D. Melck, A. Spagnuolo, S. Vesica, L. Zanetti, "Endogenous opioids in marine invertebrates," *Comp. Biochem. Physiol.* 80C:237-240, 1985.
- Shelton, G.A.B., ed. *Electrical conduction and behaviour in "simple" invertebrates.* Oxford: Clarendon Press; 1982.
- Teschmacher H., K. Opheim, B. Cox, Goldstein, "A peptide-like substance from pituitary that acts like morphine", I. Isolation. *Life Sci.* 16: 1771-1776, 1976.
- Wells, M., *Octopus physiology and behavioral responses of an advanced invertebrate,* London, Chapman Hall, 1978.
- Zisper B., M. Ruff, J. O'Neill, C. Smith, W. Higgins, C. Pert, "The opiate receptor: a single 110 K recognition molecule appears to be conserved in *Tetrahymena*, lech, and rat," *Brain Res.* 463:296-304, 1988.