

# Encefalinas y endorfinas\*

Dr. A. Rogelio Mosqueda García\*\*

*“Considerados como neuropéptidos, estas sustancias han llamado poderosamente la atención, no sólo por sus posibles papeles fisiológicos, sino también por su potencial aplicación clínica”.*

## I. Introducción

En el campo de la medicina existen aún numerosos fenómenos para los cuales no se han encontrado una explicación satisfactoria y en los cuales sólo es posible hacer conjeturas sobre su significado biológico. Estos fenómenos, frecuentemente, se convierten en campos de gran interés para los investigadores y en donde el esfuerzo sistemático propicia con cierta frecuencia hallazgos que no solo trascienden y revolucionan ideas, conceptos y creencias sino que encuentran amplia aplicación clínica, ya sea facilitando o precisando diagnósticos o bien terapéuticos más eficaces y con menor riesgo.

Tales son las consecuencias que se vislumbran con el reciente descubrimiento de sustancias endógenas de naturaleza peptídica, conocidas genéricamente como reuropéptidos. Su identificación en los tejidos biológicos parece explicar algunas de las siguientes observaciones:

A) La acupuntura que ha sido una valiosa arma terapéutica de la medicina china,

ya que ha mostrado, entre otras características, gran efectividad para producir analgesia. De tal forma, los médicos chinos son capaces de realizar importantes maniobras quirúrgicas o de aliviar diversos tipos de dolores, con la implantación de agujas en determinados sitios. Tras la observación de estos datos, la medicina de occidente se preguntó cual es el mecanismo por el que se logra este efecto.<sup>83</sup>

B) En 1969, Reynolds,<sup>103</sup> reportó que la estimulación eléctrica de ciertas áreas cerebrales producía analgesia de gran intensidad, lo que le permitía efectuar laparotomías en ratas, sin necesidad de anestesiarlas. Posteriormente otros trabajos confirmaron estos datos. ¿Cuál es el mecanismo?

C) Wagemaker<sup>32</sup> e Irvin,<sup>62</sup> observaron que si se sometían a pacientes equizofrénicos a un tratamiento que constaba únicamente de diálisis peritoneales, disminuían los síntomas de la enfermedad. Posteriormente al interrumpir este tratamiento, los síntomas reaparecían. ¿Como es posible que un método físico fuera capaz de mejorar un padecimiento mental?

D) Algunos ciervos al ser heridos por un arma de fuego, presentaron una característica reacción de alarma, ya que desarrollaron, con agilidad y fuerza inusitadas, grandes velocidades para escapar del sitio donde fueron heridos, sin hacer evidente el daño por ellos sufrido, ni la presencia aparente de un proceso doloroso. Tiempo después al seguir al mismo animal, se le pudo observar un patrón conductual francamente alterado; pudiendo uno acercarse y tocarlo se encontró que sus movimientos eran lentos y sin energía, además de hallarse solitario, sin la conducta característica de estos animales.<sup>130</sup>

También en los humanos se presentan

\* El enorme avance que se está efectuando en este campo de la Farmacología, trae como consecuencia importantes y rápidas variaciones de muchos de los conceptos. Por este motivo, una revisión de este tipo conlleva al riesgo de no considerar datos muy recientes que pueden modificar permanentemente o no algunas de las aseveraciones.

\*\* Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM.

etapas en la conducta al dolor: una fase inmediata, que sigue al proceso de daño en la cual el tratamiento de la injuria, en muchos casos, no tiene prioridad biológica elevada y por lo tanto, se presenta desprovista de dolor. Aquí, la influencia de ciertas condiciones ambientales (batalla, deseo de triunfo o escape, etc.), ocasiona reacciones en el organismo que cambian la sensación dolorosa. En una segunda fase, la conducta cambia, siendo la ansiedad y el dolor las características principales. En algunos casos, se observa una fase crónica, donde la inactividad, asociada con dolor y depresión preceden a la etapa de recuperación.<sup>130</sup> ¿Cuáles son los mecanismos que originan estos cambios en el organismo?

## II. Antecedentes

La respuesta a estas y otras interrogantes, todavía no es del todo aparente; sin embargo, se han realizado conclusiones preliminares a base de observaciones y trabajos, que en un principio arrojaban datos aislados, pero al integrarse permitieron llegar a interesantes aseveraciones.

Los primeros datos fueron obtenidos gracias al estudio de los analgésicos narcóticos, ya que en la búsqueda de su mecanismo de acción, se postuló la existencia de un receptor específico. Esto surgió debido al conocimiento de la farmacología básica y se fundamentó principalmente en:

1) La mayoría de los analgésicos narcóticos tienen características similares, básicas en su arquitectura molecular.

2) La existencia de isómeros ópticos (llamados forma levo y dextro, idénticos en su composición química, pero con diferente orientación espacial y en las que sólo la forma levo tienen actividad analgésica o acción tipo opiácea.

3) Las sustancias agonistas de este grupo pueden por ligeras modificaciones en su molécula, convertirse en antagonistas o bien en agonistas extremadamente potentes (etorfina, sulfetanil). Por lo tanto, cambios estructuralmente pequeños en la molécula conducen a grandes cambios en su actividad biológica.

Todo esto indicó en conjunto, que los opiáceos interactuaban con un receptor específico.<sup>108</sup>

### A) *El receptor*

Las bases para la identificación del receptor fueron establecidas en 1971 por Goldstein<sup>14</sup> y cols, quienes desarrollaron los métodos que hicieron posible demostrar la existencia de sitios biológicos (receptores), en membranas neuronales con gran afinidad por los opiáceos. La sustancia fue marcada radioactivamente (por ej. morfina), se administró en bajas concentraciones y se observaron los sitios donde se unía esta sustancia. Se consideró que el sitio era específico, debido a que la unión prevalecía después del lavado; los analgésicos potentes tenían mayor afinidad por estos puntos de unión que los analgésicos débiles (potencia para producir analgesia) y a que la unión era estereoespecífica.

Lo anterior, no sólo fue confirmado simultáneamente por Terenius,<sup>121</sup> Pert,<sup>99</sup> Snyder,<sup>108-109</sup> y Simon,<sup>112-114</sup> sino que también fue mejorada la técnica del modo de estudiar con mayor certeza los sitios en los que existían un mayor número de receptores (isómeros-dextro y levo marcados radioactivamente).

Además Kuhar,<sup>67</sup> observó con técnicas autorradiográficas, que el receptor se concentraba en áreas que regulaban funciones afectadas por lo opiáceos. Una alta densidad

de receptores se encontró en: núcleo preteccional (miosis), sistema límbico (euforia), núcleo del tracto solitario (centro del reflejo respiratorio, depresión del reflejo de la tos, hipotensión ortostática, alteración de los reflejos del nodo sinusal), área postrema (inducción de náuseas y vómito), tálamo, donde la mayor concentración se localizó en el infundíbulo. En la médula se localizaron receptores en la sustancia gelatinosa (estación de conducción nerviosa del dolor) y en las vías clásicas como paleo-espino-talámico, amígdala, cuerpo estriado e hipotálamo.<sup>1-4,45,109,110</sup>

Otra característica importante, fue la influencia de iones como sodio o litio. Cuando el receptor se encuentra en un medio con sodio (en un sistema *in vitro*), existe un cambio conformacional que da por resultado una alta afinidad por antagonistas y baja por agonistas. *In vivo* el sistema funciona a la inversa, ya que los opiáceos alteran la unión de sodio al receptor, disminuyendo la conductancia de éste y efectuando una inhibición de la transmisión nerviosa.<sup>100,108,113,115</sup>

Finalmente se observó que los receptores son heterogéneos. En la actualidad se han descrito 3 tipos de sitios de unión a los opiáceos y se han clasificado en: U, K, d.

Un agonista de receptores U produce: euforia, analgesia, depresión respiratoria y miosis. Un agonista de receptores d, produce: euforia, delirios y alucinaciones. La morfina es considerada como un agonista U con algo de actividad K. Pentazocina, nalorfina y ciclazocina son agonistas parciales de U y d y en ciertas dosis, antagonistas competitivos de U. La naloxona es un antagonista competitivo de los 3 tipos de receptores, sin embargo, la afinidad por el receptor d es menor que la del U.<sup>98</sup>

La demostración de la existencia del receptor de los opiáceos de inmediato suscitó numerosas preguntas. La principal: ¿Por qué la naturaleza dotó a los organismos, de receptores para sustancias que no serían descubiertas durante miles de años.

Por una parte, la alta selectividad de unión hacía evidente que el receptor no era

un vestigio de la evolución biológica; éste se asociaba con terminales sinápticas neuronales, por lo que el receptor parecía funcionar como sitio para un neurotransmisor natural, desconocido éste, hasta ese entonces. Por otra parte, la estimulación eléctrica a ciertas áreas cerebrales producía analgesia que se podía blanquear con naloxona. Si ésta última sustancia se administraba a organismos no expuestos a opiáceos, es decir por sí sola, provocaba hiperalgesia o incremento del dolor.<sup>56</sup> Además, el tratamiento con agonistas y antagonistas opiáceos *in vivo*, originaba un incremento en las medidas de unión al receptor. Con todo esto, parece obvio que el receptor opiáceo interactuaba con un ligando o sustancia endógena específica de este sistema.<sup>98</sup> Cabe mencionar, que el concepto de una sustancia endógena, se estuvo manejando tiempo atrás. Martín en 1967,<sup>85</sup> mencionó la posibilidad de que los opioides imitaran un proceso natural. Collier entre 1971-72,<sup>24,25</sup> señaló que el receptor a opioides era un receptor o una sustancia endógena humoral. Sin embargo, se carecía de bases experimentales que apoyaran estas suposiciones.

### III. Los neuropéptidos

Era evidente que todos estos datos ocasionaban gran inquietud entre los investigadores de este campo, siendo el objetivo principal el descubrimiento de la hipotética sustancia endógena.

Hughes y Kosterlitz, lograron identificar y aislar péptidos opiáceos.<sup>56</sup> A partir de encéfalos de cerdo, haciendo extractos, obtuvieron dos sustancias que tenían actividad muy similar a la morfina o a los analgésicos narcóticos, en sistemas *in vitro*, como el íleo aislado de cobayo o el vas deferens de ratón. La morfina, por ejemplo, es capaz de inhibir las contracciones provocadas eléctricamente en el íleo aislado de cobayo. Estas dos sustancias mostraron la misma acción en el sistema y debido a que aislaron del encéfalo se les denominó; *encefalinas*.

Aquellos fragmentos peptídicos hormonales que tienen efectos sobre SNC se les

designa neuropéptidos. Típicamente, cada mensajero es descubierto como un "factor", sustancia de composición química desconocida, pero que tiene un efecto fisiológico. Frecuentemente el factor emerge como una secuencia de aminoácidos que si es activa en el cerebro, pasa a considerarse como un neuropéptido.<sup>10</sup> A estos neuropéptidos corresponden ACTH, fragmentos de ACTH, factor de liberación de tirotrópina, factor liberador de gonadotropinas, factor inhibidor de la liberación de la hormona estimulante de los melanocitos, somatostatina, encefalinas y endorfinas.<sup>38,128</sup>

El péptido puede ser sintetizado únicamente en los ribosomas. Esto significa que la secuencia de aminoácidos que constituye el péptido debe ser codificada por un gen y la forma activa de la molécula es producida a través de una progresiva ruptura enzimática. Esto se refuerza debido a que la mayoría de los neuropéptidos son péptidos pequeños, de menos de 9 aminoácidos y a la fecha no se ha mostrado síntesis de péptidos por las células. menor a esta cifra,. Además, la liberación de este péptido por un axón terminal, se encuentra lejos del sitio donde es sintetizado. La forma activa debe ser almacenada en vesículas sinápticas y ser transportada, así, al sitio de liberación. Por otra parte, el mecanismo de acción de estas sustancias, es diferente al de los neurotransmisores clásicos, ya que estos últimos, actúan modificando los voltajes de las membranas. En cambio, los péptidos no producen por sí mismos, cambios notables en el gradiente de voltaje a través de la membrana, sino que al parecer hacen que las células blanco tengan menor respuesta a otras señales. Algunas veces el péptido mensajero preserva la despolarización de una membrana por el transmisor excitatorio o la hiperpolarización de un inhibidor.<sup>10</sup>

Con base a lo anterior, fue necesario establecer algunos criterios, a fin de designar a las sustancias descubiertas, como péptidos opiáceos. Estos fueron:

a) Observar si producen efectos tipo morfina.

b) Ver si los efectos que producen, son reversibles en varios sistemas *in vitro*, por naloxona.

c) Producción de analgesia reversible por naloxona y unión con receptores específicos.<sup>13</sup>

Las sustancias descubiertas por Hughes cumplieron estos parámetros y por lo tanto el descubrimiento quedó establecido. Una vez aislada la fracción activa, se observó que eran dos pentapéptidos relacionados y se les denominó met-enkefalina y leu-enkefalina.

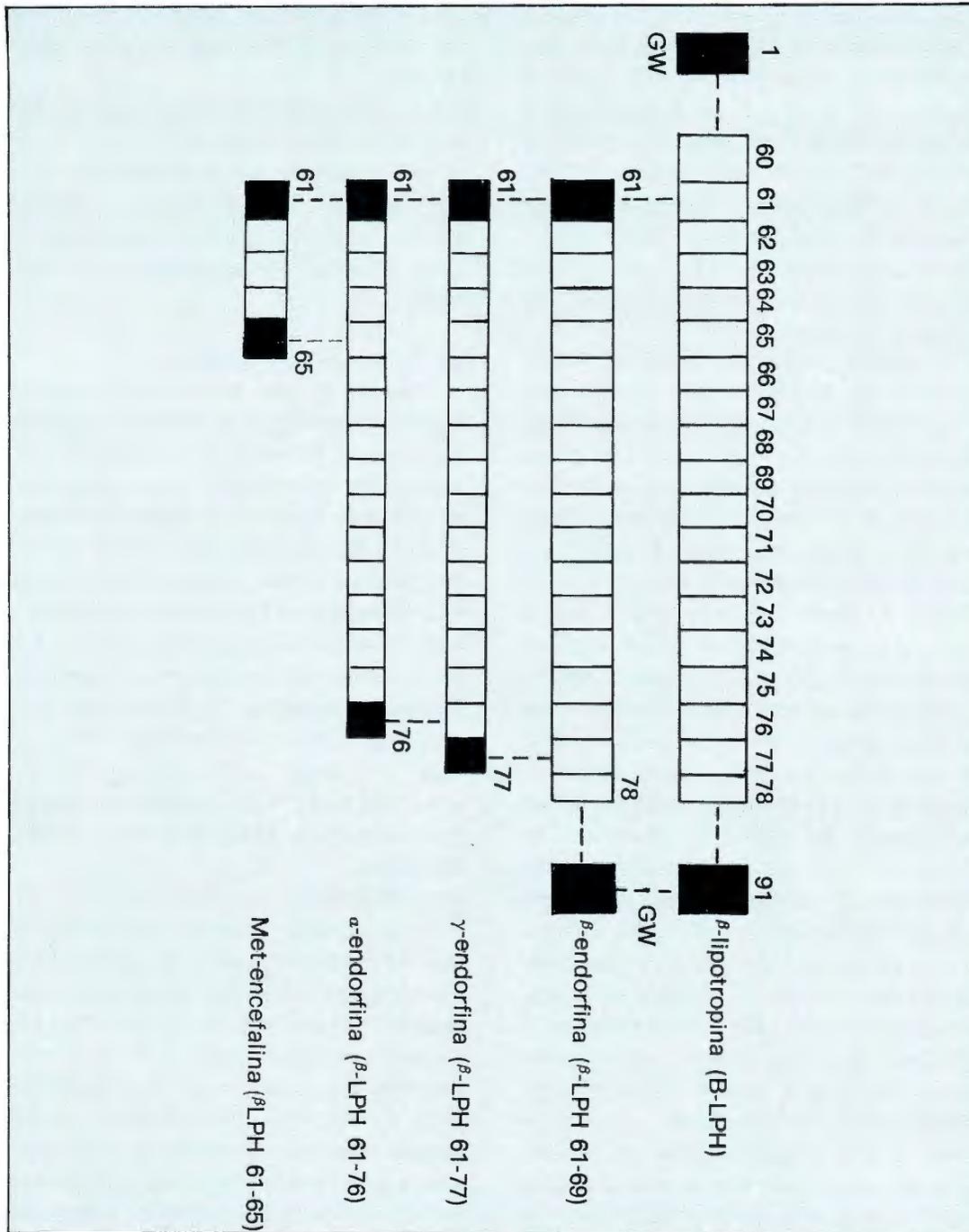
#### IV. Encefalinas y endorfinas

A partir de este momento se pudieron integrar muchos datos que permitían explicar otros tantos. En 1964, Li y cols.,<sup>76</sup> descubrieron una sustancia que por su capacidad de acción en lípidos se le denominó B-lipotropina. Sin embargo, su función no fue determinada. Varios grupos de investigadores,<sup>46</sup> identificaron largos péptidos, tipo morfina, de extractos de glándula pituitaria; al purificarlos se observó que eran fragmentos de una pro-hormona: la B-Lipotropina. A estos fragmentos se les denominó: alfa . . . , beta . . . y gama . . . endorfinas. Un año antes, Simon,<sup>114</sup> había acuñado el término endorfina, para este grupo de sustancias cerebrales.

##### a) Química

Estos péptidos consisten básicamente en una secuencia ordenada de aminoácidos. Estableciendo secuencias más cortas o cambiando algún aminoácido, se determina una sustancia específicamente. La B-lipotropina contiene una secuencia de 91 aminoácidos (Fig. 1), la parte más interesante se encuentra entre los aminoácidos 61 y 78 (tiro-sina y fenilalanina), debido a que muchos de los otros péptidos contienen fragmentos de esta sección. Así la met-enkefalina consiste básicamente en: Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (posición 61-65 de B-LPH), el nombre fue debido a que el último aminoácido es la metionina. B-endorfina corresponde a una secuencia de 30 aminoácidos (61-91 de B-LPH) y se ha denominado también frag-

**Figura 1.** Relación estructural entre la B-Lipotropina, B-endorfina Gama-endorfina, alfa-endorfina y met-encefalina. Explicación amplia en el texto.



mento "C", siendo más afín y potente que las encefalinas y morfina. Gama-endorfina tiene una secuencia de 16 aminoácidos (61-77 B-LPH) y la secuencia de la alfa endorfina es de 61-76 de la B-LPH. En el caso de la leu-encefalina, los 4 primeros amino-

ácidos son idénticos a la met-encefalina, pero el último cambia, siendo la leucina.<sup>14-16,41,108</sup>

Con todo este conocimiento, en la actualidad se han descrito diferentes compuestos. Se ha identificado un péptido llamado dinorfina,<sup>45,47,75</sup> del cual se conoce sólo parte de

su secuencia (fig. 2), postulándose que puede ser precursor de sustancias como leu-enkefalina y otras, también se han descrito la alfa-endorfina y beta-neo-endorfina.<sup>68,86</sup> Incluso se han reportado un grupo de sustancias llamadas "exorfinas", entre ellas se cuentan las casio-morfina (presentes en la leche, como la B-casiomorfina) y las epidemomorfina (identificadas en la piel de sapos). En el cerebro, se han reportado la presencia de un péptido denominado kyotorfina (1-tirosina-L-arginina), con potente actividad analgésica. En médula suprarrenal, se han descrito otros compuestos, desde uno, con gran peso molecular (50,000 daltons), hasta heptapéptidos (secuencia de met-enkefalina, en los 5 primeros aminoácidos, seguido de arginina y fenilalanina), los cuales, son liberados junto con aminas adrenérgicas. No obstante, en la actualidad se desconoce el posible papel que puedan tener estas sustancias, reservándose por lo tanto, la importancia de estos nuevos péptidos.<sup>63,77,124</sup>

Como consecuencia del conocimiento de la estructura química de las encefalinas y de algunas endorfinas fue posible elaborar síntesis de nuevos péptidos y el estudio de la relación entre estructura y actividad fue en base a la utilización de los sistemas *in vitro*.

En el caso de las encefalinas se observó que el tripéptido Try-Gly-Gly está totalmente desprovisto de actividad. Al añadir fenilalanina, formando un tetrapéptido, se conserva considerablemente la capacidad de unión al receptor con pequeña actividad farmacológica. Cuando se tiene el pentapéptido y se remueve la tirosina con el terminal-N, dá como resultado la inactivación total del péptido. Esto es de importancia, debido a que *in vivo* éste parece ser un importante mecanismo de inactivación. Por lo que se observa, este residuo es vital, tanto para la afinidad de unión como para la actividad farmacológica. En pocos casos, el incremento de tamaño del pentapéptido (adición de aminoácidos en cualquiera de las terminaciones), resulta en un aumento de la actividad.<sup>41</sup>

#### b) *Biogénesis.*

En cuanto al punto de vista de origen embriológico de estas sustancias, se está de acuerdo en que estos péptidos derivan de un sitio común: La cresta neural ectodérmica, la cual origina el sistema APUD (de donde también derivan la sustancia P, somatostatina, gastrina y el péptido vaso-activo intestinal).<sup>101,108</sup>

Estructuralmente, al parecer, existen dos fuentes de origen:

a) Un derivado común llamado pre-pro-opiocortina, que parece ser sintetizado en las células de la pars anterior, precursor de la pro-opiocortina que a su vez origina a la ACTH y B-LPH. Esta última es precursora de las endorfinas (Fig. 3).<sup>58</sup>

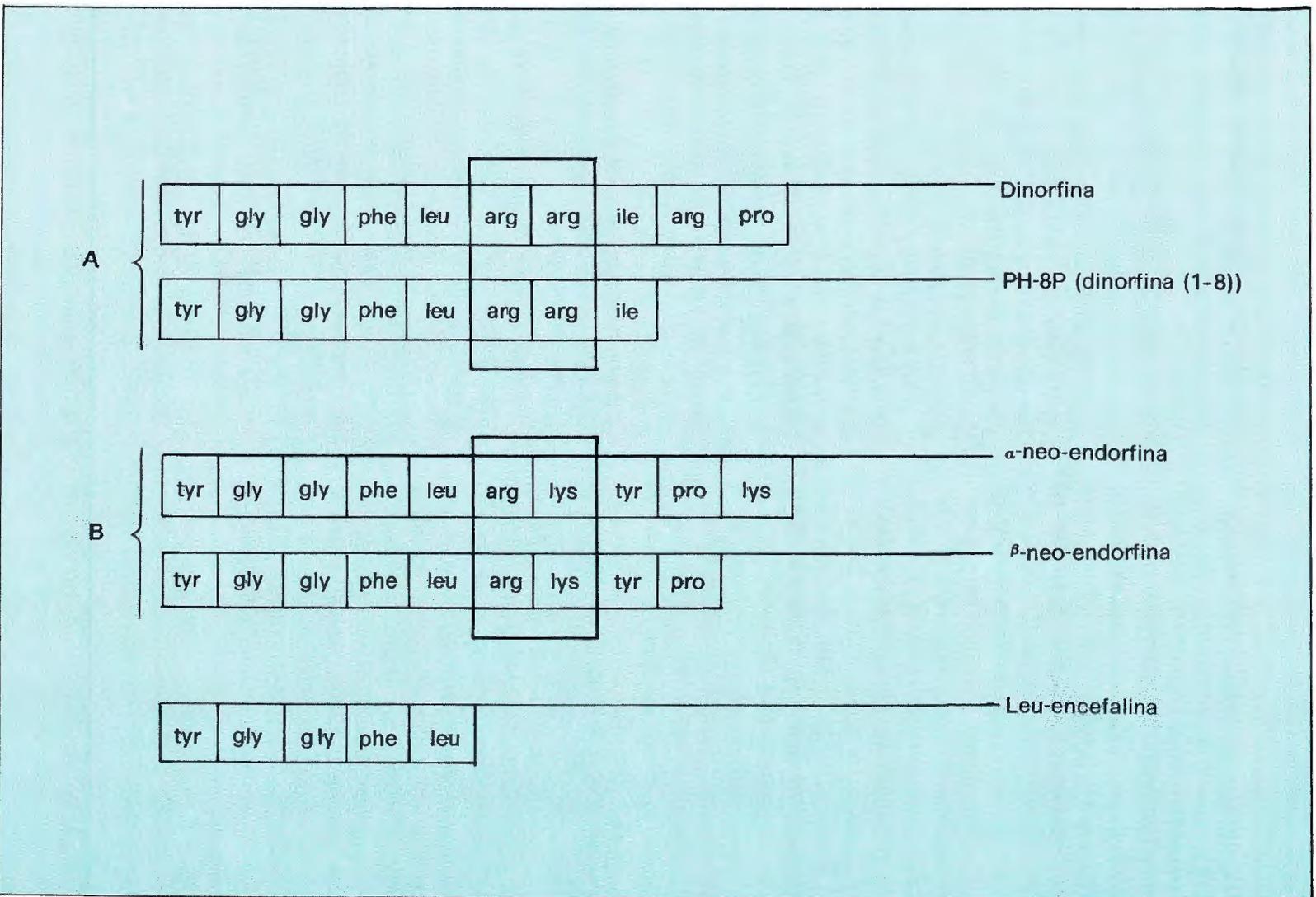
b) Otro precursor común, que al parecer, es la dinorfina (la secuencia de aminoácidos no está totalmente aclarada), que dá origen a la alfa y beta-neo-endorfinas, y quizá a la leu y met-enkefalina (Fig. 2).<sup>68,86</sup>

El primer sistema parece confirmarse debido a que existe una distribución paralela de ACTH y B-LPH, ambos péptidos, parecen estar presentes en los mismos gránulos secretorios; estímulos como el stress y el factor liberador de corticotropina, liberan concomitantemente estas dos hormonas.<sup>26,31,87,88, 188,104,129</sup>

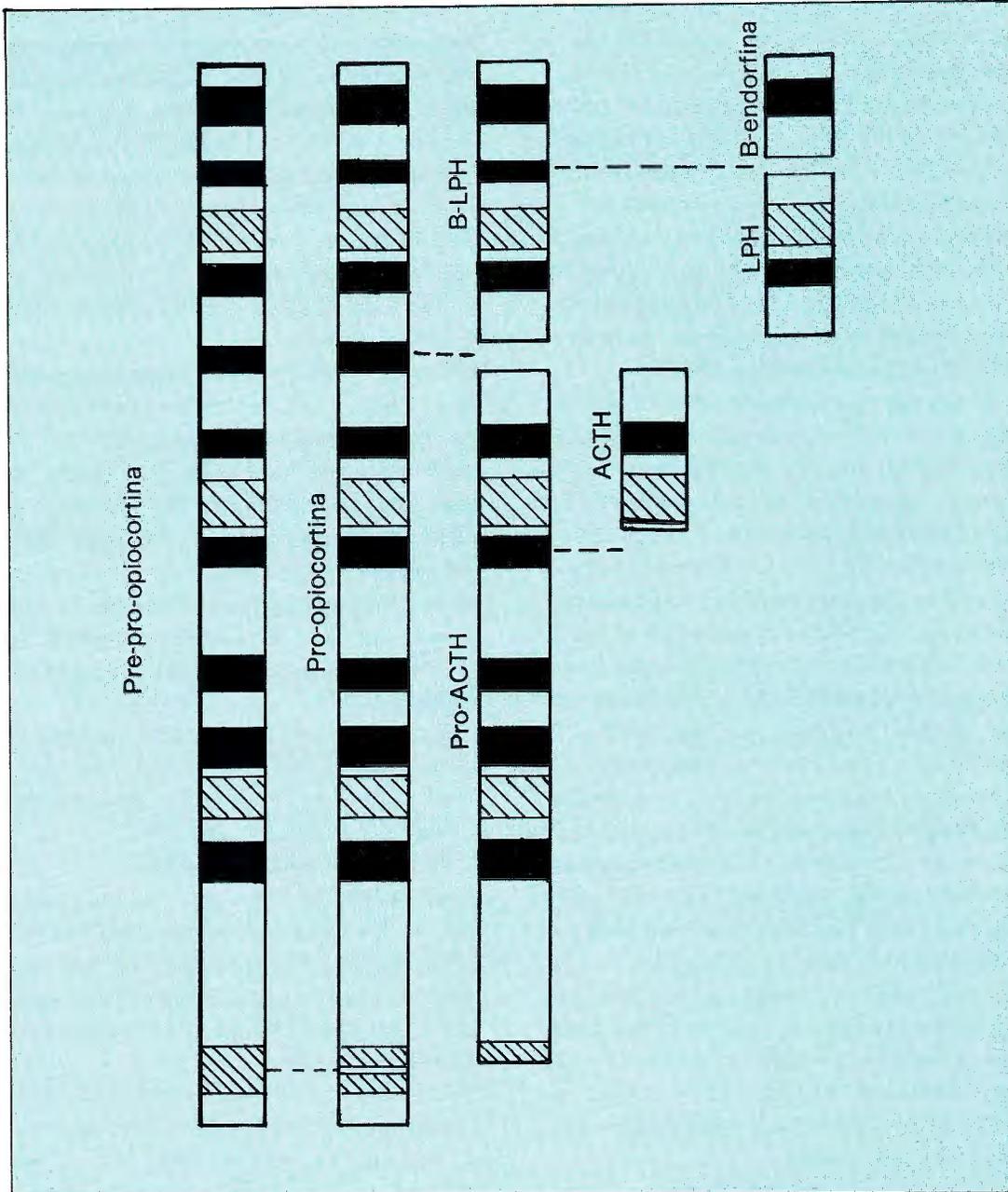
En el segundo sistema, Yang<sup>133</sup> ha podido detectar en el núcleo caudado dos péptidos que pueden ser los precursores de las encefalinas. Kankawa<sup>68</sup> reporta parte de la secuencia de la dinorfina en relación con leu-enkefalinas y las neo-endorfinas. Sin embargo, esta fuente no está totalmente aclarada y por lo tanto sujeta a comprobación.<sup>54,116</sup>

Por otra parte, los datos experimentales al añadir inhibidores de proteínas, indicaron que la síntesis de estos péptidos es a nivel ribosomal. Se ha detectado la liberación del péptido biológicamente activo de su precursor por enzimas intracelulares, que pueden ser semejantes a la tripsina, actuando específicamente sobre residuos básicos, fraccionando la molécula del precursor.<sup>13,41</sup>

**Figura 2.** Secuencia de aminoácidos de la dinorfina y un congénere y su relación como precursor de las neo-endorfinas y leu-encefalina. Explicación amplia en el texto.



**Figura 3.** Representación esquemática del precursor común (pre-pro-opiocortina) de la ACTH y B-endorfina. Este camino explicaría el que efectos como el stress y el factor liberador de corticotropina libere concomitantemente ACTH y B-LPH.



c) *Distribución*

Otro paso importante es el conocimiento de estas sustancias fue el descubrir su localización. A nivel de SNC y otros tejidos esto tiene importancia, debido a que permite especular, con ciertas bases, las posibles fun-

ciones de los péptidos opiáceos.

En primera instancia se observó la distribución regional de encefalinas y endorfinas, más adelante, se hizo evidente que existen dos grandes sistemas, uno encefalínico y otro endorfínico. El primer sistema

se encuentra distribuido en forma no uniforme y más generalizado en el tejido nervioso, por lo que se forman una serie de agrupamientos celulares y algunas vías de conexión cortas (Fig. 4). Hasta en la actualidad, no ha sido posible separar a los dos tipos de encefalinas, ya sea por inmunoensayo o histoquímicamente, quizá por que coexisten en una misma neurona.<sup>74</sup> El sistema endorfinico (considerado como B-LPH-B-endorfina-ACTH), localiza sus cuerpos celulares principalmente en la región arcuata del hipotálamo, en hipófisis, distribuyendo sus fibras hacia la región talámica periventricular. Al parecer el sistema endorfinico se encuentra más localizado restringiéndose a las áreas hipofisarias e hipotalámicas.<sup>101,131</sup>

Hablando en un contexto general, existen algunos puntos importantes en la distribución de estos péptidos. Concentraciones importantes se han detectado en *globus pallidus* (posible control extrapiramidal de la actividad motora).<sup>28,91</sup> En el cerebro medio, se han reportado concentraciones importantes en zonas de transmisión y percepción al dolor. Esta localización nos explicaría como la estimulación eléctrica de estas áreas cerebrales nos produce analgesia, que es similar a la producida por los analgésicos narcóticos. Lo anterior se desprende, debido a que este tipo de analgesia depende de la integridad de vías serotoninérgicas y noradrenérgicas, de que existe tolerancia cruzada entre los analgésicos narcóticos y la producida por estimulación eléctrica, y de que esta analgesia es parcial o totalmente revertida por naloxona. Cuando se han efectuado mediciones de estos péptidos en el líquido cefalorraquídeo, se ha reportado aumento en los niveles, posterior a la estimulación eléctrica de estos péptidos.<sup>7,9</sup>

Otra área donde es posible efectuar correlación anatomofuncional, es en el sistema límbico, donde se puede especular la participación de estas sustancias en el control de estados afectivos y en al génesis o desarrollo de algunas enfermedades mentales.<sup>9,14,29,102</sup>

La concentración de estas sustancias en el eje hipotálamo-hipofisario, ha dado pie

a la especulación de la importancia en el control de sistemas neuroendócrinos. Al igual que la morfina, los péptidos opiáceos alteran la liberación de una serie de hormonas<sup>129</sup> (ver más adelante).

Otros sitios en los que se han localizado agrupamientos cerebrales y terminales nerviosas de estos péptidos, corresponden a núcleos, que se conoce regulan una serie de funciones vegetativas como lo son, la temperatura, respiración, presión arterial, reflejo de la tos, vómito, parte de la actividad gastrointestinal y otros fenómenos como el bostezo y el parpadeo.<sup>13,17,27,30,39,43,55,59,64,69</sup>

Fuera del SNC se han encontrado encefalinas distribuidas en el sistema nervioso autónomo, principalmente en el sistema nervioso entérico. Al parecer los plexos nerviosos de este sistema contienen una de las concentraciones más altas, por gramo de tejido de todo el organismo (recordar el efecto antidiarreico de la morfina). Esto nos explica, el por que el íleo de cobayo es un excelente modelo para el estudio de narcóticos, del que además, últimamente, se ha podido lograr evidencia de liberación de encefalinas.<sup>54,55</sup>

Otra localización importante ha sido la médula suprarrenal. Al parecer ciertos estímulos son capaces de liberar monoaminas y encefalinas, de este sitio.<sup>74,55</sup>

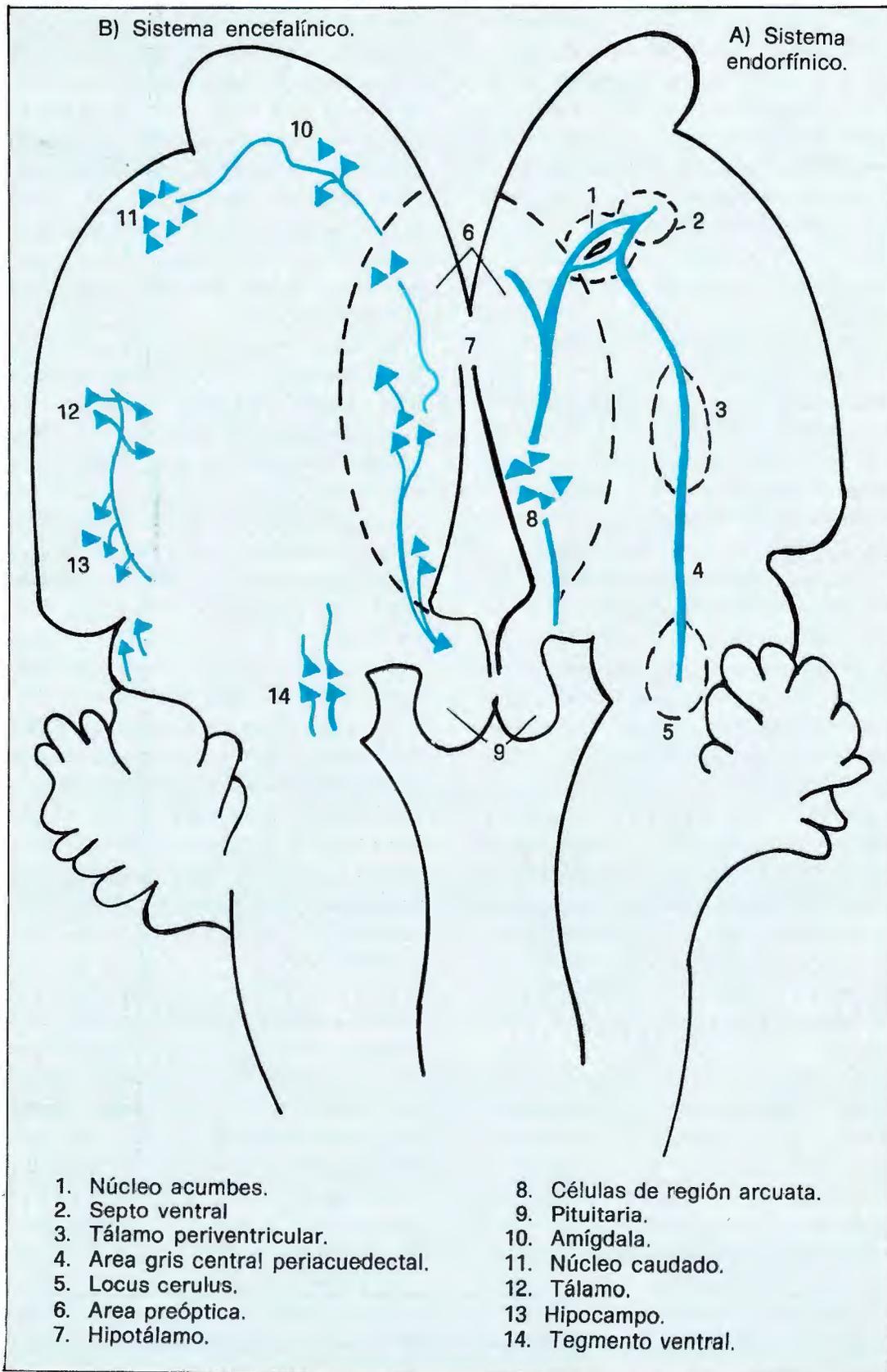
En las localizaciones periféricas, la evidencia indica que estos péptidos se encuentran en las terminaciones pre-sinápticas de las neuronas preganglionares, lo que nos puede orientar a pensar, que actúan regulando la liberación de neurotransmisores como la acetilcolina, entre otros.<sup>92</sup>

Por todo lo anterior, vemos que existe una buena correlación entre los sitios donde se localizan los péptidos opiáceos y sus acciones, lo que apoya la sospecha de que estos sistemas, tienen posible relevancia en varios eventos fisiológicos.

#### d) *Mecanismo de acción.*

No se encuentra totalmente aclarado, sin embargo, se han observado los siguientes hechos:

**Figura 4.** Distribución de los sistemas encefálicos y endorfinicos:



I) Las sustancias tipo opioide disminuyen la liberación de algunos neurotransmisores. A nivel de SNC y otros tejidos, las encefalinas inhiben la liberación de sustancia P, acetilcolina y norepinefrina. La B-endorfina inhibe la liberación de dopamina estriatal y adenilciclase en el cerebro de rata,<sup>13</sup> Snyder,<sup>109</sup> propone que el efecto es debido a que las encefalinas causan cierto grado de despolarización en la célula y por lo tanto al llegar el estímulo, este no va a despolarizar la célula como en condiciones originales.

II) A otros niveles, se ha observado que la unión de encefalinas con el receptor, causa alteración en la permeabilidad de los iones, haciendo más resistente la membrana a la despolarización por estímulos excitatorios. Toda esta acción es causada, por una reducción en el flujo de despolarización, por el sodio a través de la membrana.

III) Se ha visto que estos péptidos deprimen la acción post-sináptica del glutamato, ya que esta sustancia causa descargas de las terminaciones post-sinápticas. En tejidos periféricos, la Met-encefalina hiperpolariza neuronas como las del plexo mientérico y disminuye la liberación de acetilcolina.<sup>13,14,107</sup>

IV) Otro dato importante para el mecanismo de acción ha sido la participación del AMP-cíclico. Se le considera como un segundo mensajero, siendo un mediador de la respuesta celular a estímulos excitatorios o inhibitorios. Los péptidos opiáceos modifican los niveles de esta sustancia y por lo tanto alteran el funcionamiento neuronal.<sup>13,14,109</sup>

Por otro lado resulta evidente que existe liberación directa de encefalinas como la de otros neurotransmisores o neuromoduladores. Esta liberación es dependiente de calcio y potasio.<sup>117</sup> Algunos eventos como la estimulación eléctrica o el stress, causan liberación o disminución de niveles de encefalinas.<sup>41</sup> El tratamiento crónico, con algunos fármacos antipsicóticos, aumentan el contenido de encefalinas en varias regiones cerebrales.<sup>62</sup>

La liberación de estos péptidos puede ser debida a diversas sustancias o situaciones que producen excitación de los sistemas encefalínicos o endorfinícos. Aunado a lo anterior, parece ser que las encefalinas son liberadas de una forma tónica y localizada, para participar en la inhibición a corto plazo de los procesos de neurotransmisión, mientras que las B-endorfinas, se liberan bajo circunstancias más extremas, produciendo efectos generalizados, lo que sugiere una acción de tipo hormonal, que es por periodos más prolongados.

#### e) *Metabolismo.*

Los sitios donde se concentran los péptidos opiáceos contienen enzimas que llevan a la inactivación de estas sustancias. Los péptidos naturales son muy sensibles a la degradación proteolítica y por lo tanto sus acciones pueden ser fugaces. De hecho las encefalinas exhiben menor potencia que los opiáceos exógenos y que las B-endorfinas, debido a su rápida degradación tisular,<sup>18,26,89,90</sup>

De una forma general, las encefalinas son metabolizadas mediante hidrólisis enzimática, situación donde se encuentran involucradas enzimas como, la aminopeptidasa, las carboxipeptidasa y las encefalinasas. Se considera que el primer paso es muy rápido, con ruptura de la porción N-terminal de la tirosina. Con esto se produce un tetrapéptido inactivo, que varía en el último componente dependiendo si es met o leu-encefalina.<sup>34,61,78,93,94</sup>

Para las endorfinas el metabolismo es más lento. La betaendorfina, es menos susceptible que las otras dos, a las aminopeptidasas. Hay que recordar que las modificaciones, en la molécula de estas sustancias, originan compuestos resistentes a la degradación (la sustitución de D-alanina, en la posición 2 resulta en una pérdida de la afinidad por el receptor, pero resistente a la destrucción de enzimas cerebrales.<sup>41,93</sup>

#### f) *Métodos de estudio.*

Como se observará más adelante, muchas de las acciones que producen los péptidos opiáceos, son similares a las que producen

los analgésicos narcóticos; sin embargo, existen datos que muestran variaciones considerables, sobre todo los reportados en fases iniciales. El contar con métodos definidos de estudio, ha reducido importantemente estas variaciones y se puede tener un criterio uniforme de evaluación.

Inicialmente el aislamiento, identificación y síntesis se basaron exclusivamente en la propiedad de estas sustancias para producir efectos tipo morfina, en sistema *in vitro*, como el íleo aislado de cobayo, vas deferens de ratón y plexo mientérico de cobayo. El mecanismo de acción, tanto de los analgésicos como de los péptidos, en estas preparaciones parece ser idéntico. Todos ellos deprimen las contracciones que se producen eléctricamente en estos sistemas (estimulación a bajas frecuencias), ya que inhiben la liberación de noradrenalina en el vas deferens de ratón y la de acetilcolina en el íleo aislado de cobayo.<sup>36,41,56,80,95</sup> Recientemente se ha podido manejar la liberación de estos péptidos en sistemas como el íleo aislado de cobayo. Luján y cols.<sup>79</sup> (en el laboratorio donde labora el autor), demostraron que la estimulación, a altas frecuencias, produce en la preparación un estado dependencia a estos péptidos, evidenciado por la administración de un antagonista específico. Cuando el íleo es estimulado durante quince minutos a una frecuencia de 10 hz. y se añade al final naloxona la preparación presenta una gran contracción, la cual es muy similar a la que presentan los íleos de animales tratados crónicamente con morfina o los intestinos que han sido previamente incubados en esa sustancia. Por lo tanto este es un método que nos permite manejar la liberación de estas sustancias.

Por otro lado, para el estudio *in vivo* de estos péptidos, se han usado 4 estrategias generales:

1. El uso de antagonistas narcóticos empleados para modificar la conducta y tratar enfermedades psiquiátricas.
2. Estudios en los cuales se han administrado endorfinas y encefalinas, a humanos. Observando los cambios conductuales,

fisiológicos y bioquímicos que se producen.

3. Desarrollo de ensayos, para medir estos péptidos, en plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, correlacionándolos con efectos como dolor, stress, variación diurna y actividad.

4. Implantación de electrodos en áreas cerebrales ricas en receptores opiáceos.<sup>14</sup>

## V. Implicaciones clínicas y fisiológicas

Con los descubrimientos efectuados, las posibles implicaciones clínicas y fisiológicas se han hecho evidentes. Sin embargo, es conveniente aclarar que, existe la evidencia que señala posibles diferencias entre las encefalinas y las endorfinas, ya que anatómicamente se localizan en vías diferentes,<sup>42,126,131</sup> la concentración de endorfinas es alterada por la hipofisectomía, mientras que la de encefalinas, no se altera; el desarrollo ontogénico es diferente,<sup>11,19</sup> el catabolismo para las encefalinas es muy rápido y quizá la posibilidad de diferentes poblaciones de receptores, activándose unos por encefalinas y otros por endorfinas.<sup>32,70</sup>

A continuación se mencionan brevemente algunas de las implicaciones tanto fisiológicas como clínicas de estos péptidos.

### 1) Analgesia y modulación del dolor

Este ha sido uno de los fenómenos mayormente estudiados. De hecho, al principio, la identificación de estos péptidos se efectuaba con base a la capacidad de producir analgesia.

Se ha postulado que los efectos analgésicos de estas sustancias pueden ser por tres mecanismos:

- a) Inhibiendo aferentes somatosensoriales en niveles supraespinales.
- b) Inhibiendo aferentes somatosensoriales en el cuerno dorsal.
- c) Activando caminos descendentes inhibitorios.<sup>14</sup>

Áreas clásicamente relacionadas con el dolor (como la sustancia gris periacueductal, formación reticular y tálamo medio), contienen una alta densidad de receptores opioides. Por lo cual se ha pensado que el cerebro contiene un mecanismo endógeno de

supresión al dolor, siendo posible esto por :

a) Un sistema inhibitorio tónico, como parte de un sistema de retro-alimentación negativo. O por,

b) Neuronas encefalinérgicas que puedan ser básicamente activadas por ciertas condiciones ambientales o factores endógenos.<sup>14</sup>

Los siguientes datos experimentales apoyan el segundo mecanismo:

I) El stress produce analgesia en los animales, la cual es revertida por naloxona. Esta analgesia ocurre concomitantemente con un incremento en la actividad del sistema opioide.<sup>8,106</sup>

II) Posteriormente a estímulos que provocan stress o dolor, se ha observado un incremento en la ocupación de receptores opiáceos por encefalinas.<sup>17</sup>

III) Cuando el dolor es inducido por isquemia, este aumenta de intensidad al administrarse naloxona.<sup>20</sup>

IV) En dolores crónicos, se ha observado que existen anormalidades en las fracciones de endorfinas, principalmente cuantitativamente. Por ejemplo en caso de jaquecas se encuentra a la fracción I subnormal.<sup>123</sup>

V) Se ha efectuado analgesia por estimulación eléctrica en humanos y ésta, es debida a la liberación de encefalinas que activan caminos inhibitorios descendentes del cuerno dorsal a la médula. La misma estimulación en sustancia gris, alrededor del IV ventrículo, elevó los niveles de met-enkefalinas y disminuyó el dolor. La estimulación del tálamo medial alivió el dolor crónico. Estos efectos son revertidos por naloxona.<sup>5,81,103</sup> Por otra parte, la administración intraventricular de b-endorfinas, alivió el dolor crónico o intratable.<sup>21,33,65</sup>

VI) La analgesia que produce la acupuntura ha sido relacionada con liberación de estos péptidos opiáceos. El inicio lento sugiere una acción tipo hormonal; si se remueve la pituitaria, la analgesia desaparece, además la naloxona es capaz de bloquear, al menos parcialmente, el efecto analgésico de la acupuntura.<sup>83,118</sup>

Aún más, las encefalinas y endorfinas han abierto gran campo en la búsqueda de nue-

vos analgésicos. Se están buscando análogos sintéticos de encefalinas con propiedades analgésicas, pero sin la capacidad de producir dependencia física,<sup>111</sup> ya que las existentes en la actualidad causan, además de dependencia física, tolerancia y abstinencia.

2) *Uso en psiquiatría.*

Ambos tipos de péptidos han sido implicados en la génesis, desarrollo y tratamiento de enfermedades psiquiátricas.

a) Esquizofrenia.

A pesar de que existen reportes contradictorios y el papel de las endorfinas no está establecido, se ha reportado más o menos sistemáticamente:

»En algunos pacientes esquizofrénicos existen anormalidades en las fracciones de las endorfinas. La Fracción II de estos péptidos, se encuentra elevada y el alivio de los síntomas fue asociado con una disminución de las concentraciones de esta fracción.<sup>83,111</sup>

»Wagemaker y Cade,<sup>132</sup> observaron que la diálisis peritoneal mejoraba los síntomas de esquizofrenia. Irvin,<sup>62</sup> investigó el fluido de la diálisis y encontró leu-enkefalina en gran cantidad, la cual disminuía con las subsecuentes diálisis. Al interrumpir estas, las sustancias se elevaban y reaparecían los síntomas.

»Kline,<sup>71</sup> administró b-endorfina a tres pacientes esquizofrénicos, los cuales empeoraron su sintomatología.

b) Psicosis afectivas.

En la psicosis maniaco-depresiva y en los estados de depresión se ha reportado:

»Aumento de la fracción I, en pacientes en fase maníaca.<sup>9,122</sup>

»Lindstrom reporta elevación de las uniones a opiáceos en el líquido cefalorraquídeo, en la enfermedad maniaco-depresiva.<sup>132</sup>

»Se ha reportado fracción I baja o normal en los estados depresivos.<sup>9,122</sup>

»Kline,<sup>71</sup> administró b-endorfina a tres pacientes deprimidos, los cuales mejoraron. Este autor también reporta: existen efectos inmediatos después de la administración de la endorfina, los cuales son principalmente

parestias y efectos autonómicos. Pero también existen efectos tardos y se dividen en tres etapas:

1) *Una fase antidisfórica*, con inicio de activación y propiedades desinhibitorias, efectos ansiolíticos y antidepresivos. El inicio es de 5-10 minutos y dura hasta seis horas.

2) *Una fase inhibitoria* caracterizada por sedación, somnolencia, perplejidad y alteración de procesos cognocitivos. El comienzo fue dentro de las dos horas con una duración de tres horas.

3) *Una fase terapéutica*, que comenzó dentro de 1 a 5 días, con una duración de 1-10 días y en donde existió una disminución de los síntomas de enfermedad mental.

¿Pueden estas fases explicar las etapas de reacción al dolor enunciadas al inicio del trabajo?

»Fase antidisfórica. Los ciervos no hacen evidente el daño sufrido, ni un proceso doloroso.

»Fase inhibitoria. Tiempo después, en los ciervos se observan movimientos lentos sin energía y solitarios sin la conducta característica de estos animales, etc.

c) Tratamiento antipsicótico. La observación de los fenómenos anteriormente señalados dio pauta para el empleo de antagonistas de los narcóticos, como antipsicóticos. Hasta el momento los datos obtenidos son confusos y en ocasiones controvertidos, por lo cual se necesita de estudios clínicos mejor implementados. Se han reportado las siguientes condiciones:

»Janowsky,<sup>66</sup> reportó un efecto antimáico de la naloxona.

»Emrich,<sup>40</sup> señala que la naloxona disminuía significativamente los síntomas psicóticos. Otros reportes también señalan que la naloxona disminuyó, en pacientes esquizofrénicos, las alucinaciones auditivas.<sup>12,48,72</sup>

»La naloxona administrada intravenosamente, disminuyó los síntomas psicóticos de 2-7 horas después de la administración.<sup>66</sup>

»Hong y otros autores,<sup>9,60,108</sup> reportan que el tratamiento con neurolépticos y algunos antipsicóticos, de forma crónica, incrementa

los niveles cerebrales de encefalinas en regiones como el neo-estriado, globo *pallidus*, etcétera.

#### d) *Procesos conductuales y de aprendizaje*

Se han emprendido estudios para observar las alteraciones en procesos como la conducta y otros. Bajas dosis, facilitan la conducta pasiva. En ratas la b-endorfina provoca conducta sexual anormal. Excesivo acicalamiento, estimulación de la ingesta de comida, sacudidas de perro mojado, disminución de la actividad locomotora, acciones todas que son bloqueadas por la naloxona.<sup>13,66,128</sup> También en forma general se menciona que afectan funciones de motivación, memoria y cognocitivas. El sistema opioide endógeno puede estar implicado en la regulación del talante, procesos adaptativos conductuales, donde se implican la capacidad de producir catatonía cuando se administran en ciertas áreas cerebrales,<sup>11,40,126</sup> anticoncepción, disrupción de patrones conductuales aprendidos o genéticamente determinados.<sup>11,13,40,128</sup>

#### 3) *Efectos endocrinológicos*

La observación de altas concentraciones de estos péptidos en pituitaria e hipotálamo sugirió su función endócrina.

Estos péptidos, en general, aumentan los niveles de prolactina. Este efecto es bloqueado por la naloxona.

Se ha postulado que estas aminas biogénicas influyen la secreción de hormonas pituitarias, regulando la liberación de hormonas hipofisiotrópicas dentro del sistema. Así, met-enkefalina disminuye la disponibilidad de dopamina en la eminencia media y por lo tanto, quita el efecto inhibitorio de esta última sobre la prolactina. El resultado neto es un incremento en la liberación de prolactina.<sup>35,49,119</sup>

Los péptidos opiáceos endógenos inhiben la secreción de hormona luteinizante; la naloxona incrementa las hormonas luteinizante y foliculo estimulante.<sup>22,23,107</sup> En este efecto está implicada la serotonina, ya que

puede regular la liberación de gonodotropinas.<sup>107,125</sup>

Met-enkefalina disminuye los niveles de TSH y aumenta los de antidiurética. B endorfina, aumenta la hormona del crecimiento.<sup>129</sup> En estos efectos también es posible que se encuentre involucrada la serotonina.<sup>125</sup>

#### 4) *Efectos varios*

Existen otros efectos que han sido menos estudiados, los que mencionaremos brevemente.

»Se reporta que ratas obesas, al igual que ratones obesos, contienen cantidades excesivas de endorfinas.<sup>96</sup>

»King en 1976,<sup>73</sup> postula que los opiáceos pueden tener un papel regulatorio en el sueño.

Estos péptidos opioides han sido involucrados en la regulación de la temperatura (dosis bajas hipotermia, dosis altas hipertermia) y presión arterial (hipotensión estado de choque, etc.),<sup>10,13</sup> además de que pueden jugar un papel en la etiología y desarrollo de la epilepsia.<sup>127</sup>

#### 5) *Tolerancia y dependencia física*

Los péptidos opiáceos han ofrecido una explicación alternativa a los fenómenos de tolerancia y dependencia física. Se considera que existe tolerancia, cuando la dosis del medicamento se tiene que aumentar para producir un mismo efecto inicial, o cuando la dosis inicial de una sustancia es incapaz de mostrar el mismo efecto, en ocasiones sucesivas. Snyder propone: normalmente existe unión entre encefalinas y el receptor, lo que origina una respuesta. Cuando se administra morfina, ésta ocupa receptores que normalmente están libres y junto con las encefalinas, provocan analgesia. Al existir una administración crónica de morfina, existe una disminución en la liberación de encefalinas y por lo tanto el efecto es menor. Consecuentemente, se necesita mayor dosis de morfina para lograr el mismo efecto (tolerancia, Fig. 5).<sup>109</sup>

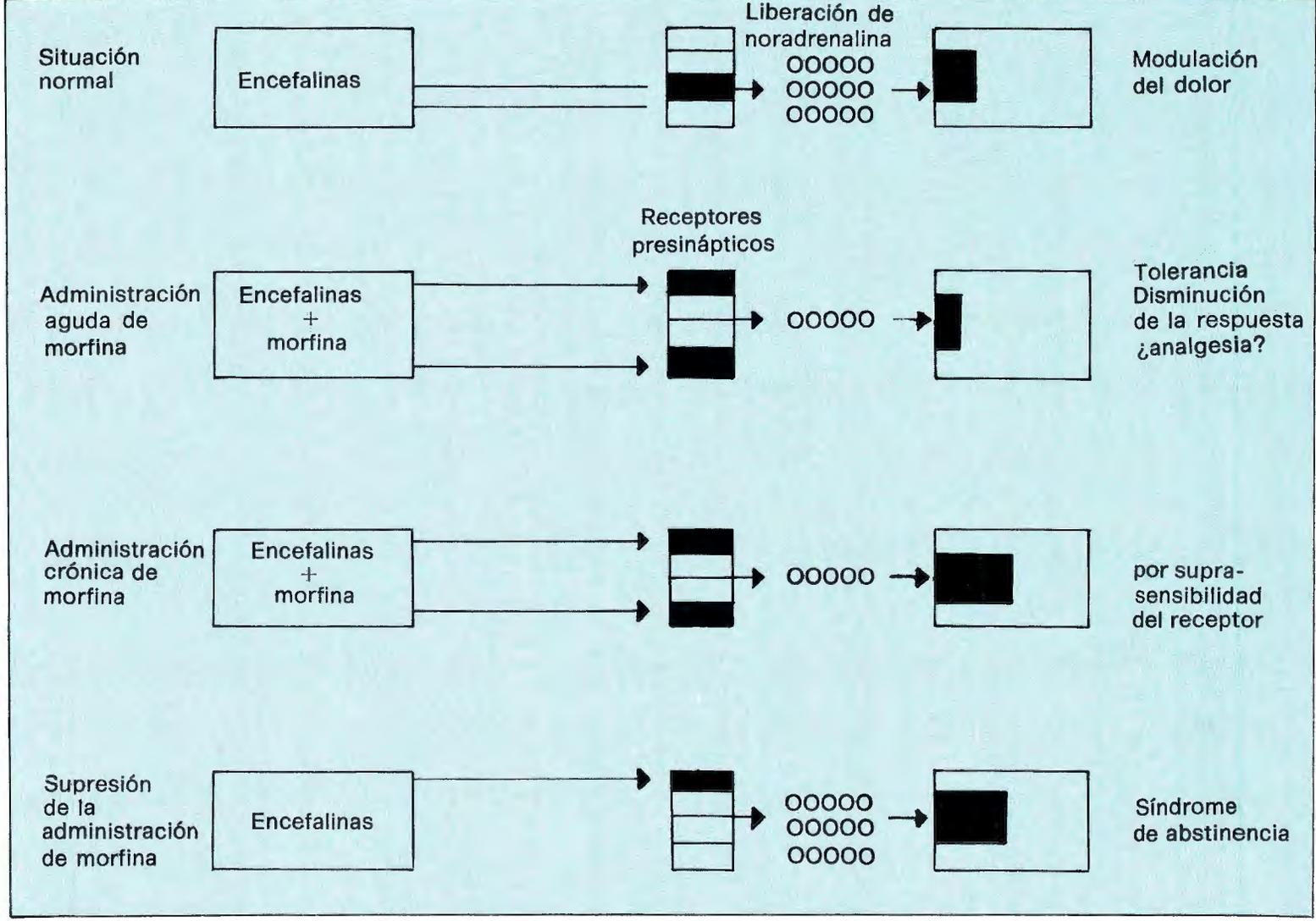
Por dependencia física se entiende, los cambios en el tejido nervioso producidos

por la presencia continua del opiáceo, reflejando la adaptación de las células nerviosas, a un medio alterado, alcanzando lo descrito como homeorrexis. Al quitar el opiáceo se pierde este equilibrio y se presenta una serie de eventos como: diarrea, insomnio, excitación nerviosa, pupilas dilatadas, etc. En el esquema que propone Snyder, al suspender la administración de morfina, los receptores se encuentran sin el fármaco y sin las encefalinas, precipitando los signos característicos del síndrome de abstinencia.

Otras explicaciones que se le han dado a estos fenómenos son por ejemplo, la relación entre sustancias opioides y neurotransmisores. Schwartz,<sup>120</sup> propone que existe el receptor presináptico en terminaciones nerviosas, las cuales liberan noradrenalina. Normalmente estos receptores no son totalmente ocupados y las encefalinas al actuar en ellos modulan la liberación del neurotransmisor, éste en la membrana postsináptica provoca una respuesta. En la administración aguda de morfina, se ocupan todos los receptores y se disminuye importante la liberación del transmisor con la disminución concomitante de la respuesta (¿analgesia?). En la administración crónica, los receptores continúan ocupados con poca liberación del neurotransmisor y sin embargo, el receptor, desarrolla suprasensibilidad capaz de interactuar con el escaso neurotransmisor, dando una respuesta aumentada (tolerancia). Al suspender la morfina, una gran cantidad de receptores quedan libres y por lo tanto, la inhibición desaparece y el neurotransmisor es liberado en grandes cantidades, por lo que el actuar en el receptor (que exhibe un estado de supersensibilidad), ocasiona una respuesta supranormal (síndrome de abstinencia).

Otros datos que se han relacionado con estos fenómenos, ha sido la intervención del AMP-cíclico. La administración de opiáceos disminuye los niveles de AMPc. Tras la administración crónica, estos retornan a niveles basales (tolerancia), por lo tanto se necesita de mayor administración de la

**Figura 5.** Modelo esquemático relacionando la acción de las encefalinas con receptores pre-sinápticos y neurotransmisores (noradrenalina) tratando de explicar los fenómenos de abstinencia, tolerancia y posiblemente analgesia. Modificado de Swartz.<sup>137</sup>



sustancia para inhibir los niveles. Al interrumpir la administración de morfina, existe una gran producción de AMPc dándonos los signos celulares de abstinencia.<sup>108,109</sup>

No obstante, la presencia de péptidos endógenos y la demostración de que por sí mismos pueden causar dependencia,<sup>79</sup> cuestiona seriamente el manejo de estos términos (por ejemplo, dependencia física), como una situación totalmente anormal o infrecuente en el organismo.

¿Realmente no serían los estados de dependencia física y tolerancia, fenómenos que ocurren normalmente en el organismo? Estados que sólo se hacen evidentes bajo ciertas circunstancias.

Ananth y cols.<sup>9</sup> reportaron, que la administración única de naloxona provoca un estado de náuseas, vértigo, sensación de hormigueo, entre otros datos que sugieren un estado de síndrome de abstinencia a opiáceos endógenos. Es posible entonces que un grado de dependencia o tolerancia a neurotransmisores sea un estado normal.

Quizá en el futuro, se tenga que revisar y revalorar seriamente todos estos conceptos al grado de que estos sólo signifiquen niveles cuantitativamente mayores en la escala de normalidad y aprendiendo como el organismo controla estas interacciones, seamos capaces de implementar mecanismos de regulación de los fenómenos de tolerancia, dependencia física y del síndrome de abstinencia a sustancias exógenas. □

#### Bibliografía

1. Atweh, S. y col.: Associations of opiate receptor with small caliber nerve fibers; *Neuropharmacology* 17:65-72, 1978.
2. Atweh, S., Leuhar, N. y col.: Autoradiographic localization of opiate receptor in rat brain: I-Spinal cord and lower medulla; *Brain Res.* 124:53-67, 1977.
3. Atweh, S. col.: II. The Brainstem; *Brain Res.* 129:12, 1977.
4. Atweh, S. y col.: III. The Telencephalon; *Brain Res.* 134:392-405, 1977.
5. Akil, Mayerd y col.: Antagonism of Stimulation Produced analgesia By Naloxone; *Science* 191:1961-62, 1976.
6. Akil, H. y col.: Pain control by Focal Brain Stimulation in Man: relationship to Enkephalins and Endorphins. En: *Mechanisms of pain and analgesic compounds.* Ed by Beers. p. 239-247. Raven press. Nueva York, 1979.
7. Akil, U. y Watson, S.: The role of Endogenous opiates in pain control en: *Pain and Society.* Ed. By: Kosterly pp. 23-45. Dahlem konferenz Weinheim, 1980.
8. Akil, H. y col.: Stress-induced increase in endogenous opiate peptides en: *Opiates and endogenous opioid peptides.* Ed. By: Kosterlitz. Amsterdam Elsevier/Norty Holland p. 63, 1976.
9. Anath, J. y Callanan, T.: Importance of Endorphins in Psychiatry; *Comprehen. Psychiat* 20:246-255, 1979.
10. Bloom, F.: Neuropeptides; *Scientific American* 245 (4): p. 114-124, 1981.
11. Bloom, F. y col.: Endorphins: development celular and Behavioral aspects en: *neural peptides and Neuronal communication.* Ed. by. Costa E. pp. 45-67. Raven Press Nueva York, 1980.
12. Blomm, F. y col.: Endorphins: profound Behavioral effects in rats Suggest New Etiological Factors in Mental Illness; *Science* 194:630-2, 1976.
13. Beaumont y Hughes: Biology of opioid Peptides; *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 19:245-67, 1979.
14. Bunney Pert, Klee, Costa, A. Pert, Davis: Basic and Clinical Studies of Endorphins; *Ann of internal medicine* 91 (2): 239-250, 1979.
15. Bohus, B. y col.: Endorphins and Behavioral Adaption; *Adv. Biological Psychiat.* 5:7-19, 1980.
16. Bieneit, M. y col.: Endogene Peptide Un Analgesic; *Pharmazie* 34:634-37, 1979.
17. Beubler, M. y col.: Naloxone Increase carbon Dioxide Estimulated respiration in Rabbit; *naunyn-schmiedendbeas Arch. Pharmacol.* 311:199-203, 1980.
18. Bradbury, A. y col.: *Nature* 260:793-95.
19. Bayon, A. y col.: Perinatal Development of the Endorphin and enkephalin containing system in the rat Brain; *Brain Res.* 179: 93-101, 1979.
20. Buchsbaum, M. y col.: Naloxone Alters pain Perception and Somatosensory Evoked Potentials in normal subjects; *Navort lond* 270: 620-622, 1977.
21. Belluzi, J. y col.: Analgesia Induced in vivo By Central Administration of Enkephalin in rat. *Nature* 160-625, 1976.
22. Barraclough, C. y col.: Inhibition of the Release of Pituitary Ovulatory Hormone in Rat By Morphine; *Endocrinology* 57:329-337, 1955.
23. Brank, M. y col.: Opioid Peptides Modulate Luteinizing Hormone Scretion During Sexual Maturation; *Science* 203:1129-1131, 1979.
24. Collier, U. y col.: *Pharmacology and the Future Of Man* G.H. Acheson E.D.P. 65-79 in vol. 1 Karger Basel, 1973.
25. Collier, H.: *En: Biochemical and Pharmacological Aspects of Dependence and Reports of Marihuana Research: H.H. van Praag E.D.* pp. 23-45 Deerven f. Bohn. N.V. Harlem, 1972.
26. Chretien y col.: Beta-lipotropin, Endorphins and Enkephalins, *clin Neuro: a Pathophy-*

- siological Approach Raven Press. 147-153. 1976.
27. Clovet, D. y Ratner: In opiates and Endogenous opioid peptides Kosterlitz E. pp. 71-78, Elsevier North-Holland B. Press Amsterdam, 1976.
  28. Cuello, A.: Enkephalin and Substance p. containing Neurons in the trigeminal and Extrapyramidal Systems: Adv. Biochem. Psychopharmacol., 18:111-124, 1978.
  29. Coheh, S.: Some Implications of Current Neuropeptide studies For Clinical Psychophysiology of Future; Adv. Biochem. Psychopharmacol. 17:267-292, 1977.
  30. Carr, D.: Endogenous opioids and Fever: An Hypothesis: Persp. Biol. Med. 23:1-6, 1979.
  31. Curetien, M. y col.: Biochem Biophys RCS. Common 72:472-78, 1976.
  32. Chang, K. y Cuatrecasas: Multiple opiate Receptors J. Biol. Chem. 254:2610-2618, 1979.
  33. Catlin, D. y col.: Pharmacological Activity of B-Endorphin in man. Commun. Psychopharmacol. 1493, 1977.
  34. Dupont, A. y Col.: Extremely Rapid Degradation of H-Methionine-Enkephalin By Various Rat Tissues *in vivo* and *in vitro*; Life Sci 21:907-14, 1977.
  35. Dupont, A. y col.: Stimulation of Prolactin Release in the rat by Intraventricular Injection of B-Endorphin and Met-enk Biochem. Biophys. Res. Commun 75: 76-82, 1977.
  36. Dewey y col.: The Effects of Enkephalins in the isolated Guinea-pig ileum: en: Opiates and endogenous opiates peptides. Ed. By kosterlitz pp. 103-11. Elsevier north Holland Biomedical Press, 1976.
  37. De Wied D.: Behavioral effects of Neuropeptides related to B-Lph En: Centrally Acting Peptides. Ed. By Hughes. London Mac Millan P. 241-51. 1978.
  38. De Wied, D. y col.: Pituitary Peptides and Behaviour: Influence of Motivational Learning and Memory Processes: Neuropsychopharmacology, Proc 9 Th. Cong. Coll. Int. Neuropsychopharmacologicum, Paris, 1979.
  39. Eipper, B. y col.: Detection of Two Endorphin like Peptides in the nucleus Caudatus; Neuropsychopharmacology 17:433-35, 1978.
  40. Enrich, H. y col.: Indication of an antipsychotic action of the opiate and antagonist naloxone; Pharmakopsychiat 10: 265, 1977.
  41. Frederickson, R.: Enkephalin Pentapeptides A Review of Current evidence for A Physiological Role in Vertebrate Neurotransmission: Life Scie. Vol. 21:23-42, 1977.
  42. Frederickson, R. y Smthwica, E.: Evidence for tonic Activity of Enkephalins in the brain and development of sistematically active analogues with clinical potential. En: Endorphins in mental healt research. Ed. By: usdin, Bunney pp. 255-265. The Mac Millan Press. Ltd London, 1979.
  43. Faden, A. y Holaday, J.: Opiate Antagonist: A Role in the Treatment of Hypovolemic Shock; Science 205:317-318, 1979.
  44. Goldstein, A., Lowney, L. y Pal, B.: Nat. Sci. Usa. 1742-1747, 1971.
  45. Goldstein, A., Tachibana, S., Lowney, L.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:6666-6670, 1979.
  46. Guillemin, R., Ling y Burgus: C.R. Acad. Sci. Paris. 282:783-785, 1976.
  47. Ghazarossian, V. y col.: A specific Radio Immunoassay For the Novel opioid Peptide Dynorphyn Life Sci. 27:75-86, 1980.
  48. Gunnel, L. y col: Naloxone-induced Reversal of Schizophrenic Hallucinations: J. Neural Transm, 40: 13-9, 1977.
  49. Grandison, L.: Evidence for Regulation of Prolactin Release By Endogenous opiate. Nature 270:357-359, 1977.
  50. Gesellchen Pand Zimmerman, D.: Analgesics (Peripheral and central) Endogenous opioids and their receptors and Annual Reports in medical Chemistry vol 16 Ed. by Hess No. Academy Press., 1981.
  51. Hiller, J. y col.: Res. Commun. Chen Pathol. Pharmac. 6: 1052-1062, 1973.
  52. Hughes, J. Smith, T. y Rosterlitz, H.: Nature 258:577-279, 1975.
  53. Hughes, J. Kosterlitz, H. y col.: The incorporation of 3H-Tyrosine into the Enkephalins of striatal slices of guinea-pig brain: Br. J. Pharmacol. 63:396, 1978.
  54. Hughes, J. y Rosterlitz, H.: The distribution of Methionine Enkephalin and Leucine Enkephalin in the brain and Pheripheral Tissue. Brit. J. Pharmacol. 61: 639-647, 1979.
  55. Hughes, J.: Peripheral opiate Receptor Mechanisms. Trends Pharmacol. Sci. 21-24, 1981.
  56. Hughes, J. y col.: Identification of Two Related Pentapeptides from the brain With Potent opiate agonist Activity. Nature 258: 577-579, 1975.
  57. Herman, Leslie y Goldstein: Behavioral Effects and *in vivo* degradation of Intraventricularly administrated Dynorphyn Life Sci. 27:883-892, 1980.
  58. Hope, J. y Lowry, P.: Pro-opiocortin: The Acth Lph Common Precursor Protein. Frontiers of Hormone Research 8:44-61, 1981.
  59. Holaday, J. y Faden: Naloxone acts at central opiate receptors to reverse hypotension hipotermia and hypoventilation in Spinal Shock. Brain Res. 189:295-299, 1980.
  60. Hong, J. y col.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 205:141-47, 1978.
  61. Hambrook, J. y col.: Mode of Deactivation of the Enkephalins by Rat and Human Plasma and Rat Brain Homogenates Nature 262-782-83, 1976.
  62. Irvin, F.: Leucine-Enkephalin in the Dialized fluids of Schizophrenics presented at the Allan Memorial Institute, 1977.
  63. Inturrisi y col.: Analgesic Activity of the Naturally Ocurring Heptapeptide (met) F-enkephalin Arg. The Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77:5512-5514.
  64. Janssen, H. y Luthierer, L.: Ventriculocisternal Administration Of Naloxone Protects against severe Hypotension during endotoxic Shock. Brain Res. 194:608-612, 1980.
  65. Jacquet, Y.: Behavioural and Bichemical Properties of opioid Peptides. En: Opiates Endogenous opioid peptides Ed. By. Koster-

- litz Amsterdam Elsevier North Holland p. 411, 1976.
66. Janowsky, D. y col.: Naloxone of Manic Syntoms and Growth-Hormone Levels. *Lancet* 2:320. Letter, 1978.
  67. Kuhar, M. y col.: *Nature Londres* 245:447-50. 1973.
  68. Kangawa, minnamino y col.: The complete Amino Acid Sequence of Neo-Endorphin. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* 99:871-878, 1981.
  69. Kunos, G. y col.: B-Endorphin: Possible involvement in the antihypertensive effect of central Receptor Activation *Science*: 211:82-84, 1981.
  70. Kosterlitz, H.: Possible Physiological Significance of Multiple Endogenous opioid Agonists en: *Mechanism of Pain and Analgesic compounds* ed. by: beers. R. Praven. Press. Nueva York, 1979.
  71. Kune, Ns y col.: B-Endorphin-Induced Changes in Schizophrenic and depressed patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 34:1111-1113. 1977.
  72. Kurland, A.: The tratment of Perceptual disturbances in Schizophrenia with Naloxone Hydrochloride. *Am. J. Psychiat.* 134:1408-10, 1977.
  73. King, Cd. y col.: Endorphin Caused Naloxone-Reversible Hyposomnia In Cats. Presented 16 th Annual Neetmg of the Asociation for Psychophysiological study of slepp. Ohlo, 1976.
  74. Lord, J. A. y Kosterlitz: **Multiple Opiate Receptors.** Enkephalins: Isolation, distribution and function. En *opiates and Endogenous opioid peptides.* E. H. Kosterlitz pp. 275-280, 1976.
  75. Lord, J. y col.: Endogenous opioid peptides. Mutiple Agonist and Receptors. *Nature* 267: 495-499, 1977.
  76. Li Ch: Lipotropin A New Active Peptide From Pituitary Glands *Nature* 201:924, 1964.
  77. Lundberg y col.: Enkephalin and Somatostatin-like immunoreactivities in Human Adrenal Medulla and Pheochromocytoma. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76:4079-483, 1979.
  78. Lane, A. y col.: Subcellular Localization of Leucine-Enkephalin Hydrolysing activity in Rat Brain. *Nature* 269: 75-76, 1977.
  79. Luján, M. y col.: Electrically Induced Narcotic-Like Dependence in The Isolated Guinea-Pig Ileum *Life Cci.* 27:1687-1693, 1980.
  80. Luján, M. y col.: Pharmacological Characterization of the opiate Physical Dependence in the Isolated Guinea-pig ileum. *Brit. J. Pharmacol.* 73-859-866, 1980.
  81. Lewis, V. y Gebhart: Morphine-Induced and Stimulation-Produced analgesia at Coincident Periaquecital Gray Loci. *Exp. Neurol.* 57: 934, 1977.
  82. Lindstrom, L.: Endorphins in Human Cerebrospinal fluid Clinical Correlations to Some Psychotic States. *Acta Psycait. Scand.* 57: 153-164, 1978.
  83. Mayer, D. y col.: Acupuncture Analgesia: Evidence for Activation of a Pain inhibitory system as a Mechanism of action in *Adv. Pain. Res. Therapy* Ed. by Bonica. J.N.Y. Raven. Press. p. 751, 1976.
  84. Martin, Wr.: Naloxone. *Ann. Intern. Med.* 85:765-768, 1976.
  85. Martin, Wr.: *Pharmacol. Rev.* 19:463-522, 1976.
  86. Minamino, y col.: B-Neo-Endorphin, A New Hypothalamic "BIG" Leu-Enkephalin of Porcine Origen. *Bioch Biophys. Res. Conm.* 99: 864-870, 1981.
  87. Mains, R., Eipper, B., Ling, N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 3014-18, 1980.
  88. Mains, R. Eipper: *J. Biol. Chme.* 253:651-55, 1978.
  89. Miller, R. y Cuatrecasas, P.: Enkephalins and Endorphins. *Vot. Horm.* 36:297-382, 1978.
  90. Miller, R. y col.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 74:1311-18, 1977.
  91. Miller, R. y col.: *J. Biol. Chem.* 253: 531-38, 1978.
  92. Marwaha, J. y Frank, G.: Candidate Mechanisms for inhibition of Neurotransmitter release by narcotic analgesics and endorphins. *Drug alcohol Dependence.* 5:69-80, 1980.
  93. Marks, N. y col.: On the degradation of Enkephalins and endorphins by rat and Mouse brain extracts. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 74: 1552-56, 1977.
  94. Meek, J. J. y col.: Enkephalin Catabolism in Vitro and in vivo *Neuropharmacology* 16: 151-54, 1977.
  95. Miller, R. y col.: Neurobiology and Neuropharmacology of the Enkephalins *Adv. Biochem. Pysichopharmacol.* 20:187-226, 1979.
  96. Margules, D. y col.: B-Endorphin in associated with overeating in Genetically obese Mice (ob/ob) and rats (fa/fa). *Science* 202: 988-9, 1978.
  97. Oliveras, J. L. y col.: *Brain. Res.* 120:221-29, 1977.
  98. Pert, Cb. y col.: Opiate Agonists and antagonists discriminated by Receptor binding in brain. *Science.* 182:1350-61, 1973.
  99. Pert, C. B. y col.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 73:3820-33, 1976.
  100. Pert, C. B. y Snyder, S.: *Molec. Pharmac.* 10:868-879, 1974.
  101. Pearse, A.: *Nature Lond,* 262:92-94, 1979.
  102. Pankseep, J. y col.: Endogenous opioids and social Behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 4: 473-487, 1980.
  103. Reynolds, D. V.: Surgery in the Rat During Electrical Analgesia induced By Focal Brain Stimulation. *Science* 164: 444-445, 1969.
  104. Roberts, J. y col.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74:5300-4, 1977.
  105. Rossier, J. y col.: Regional Dissociation of B-endorphin and Enkephalin contents in rat brain and Pituitary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 5162-5165, 1977.
  106. Rodger, R.: Opiod Peptides. Brain and Behaviour. A. brief Review. *Irish J. Med. Sci.* 147:57-62, 1978.
  107. Rotsztejan, W. y col.: Met-Enkephalin inhibits in vitro Dopamine induced LHRH Release from Medio basal Hypothalamus of male Rats. *Nature* 274:281-282, 1978.
  108. Snyder, S. y Simantov, R.: The opiate receptor and opioid peptides, *J. Neurochem.* 28:13-20, 1977.

109. Snyder, S.: Opiate Receptors and internal Opiates. Science American, 1978.
110. Snyder, S. y Innis: Peptide neurotransmitters. Ann. Rev. Biochem. 48:755-82, 1979.
111. Snyder, S.: Clinical Relevance of opiate Receptor and opioid Peptide research. Nature 279:13-14, 1979.
112. Simon, E. J. y col.: Stereospecific Binding of the Potent Narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-Brain Homogenate. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70:1947-9, 1973.
113. Simon, E. J. y col.: J. Pharmac. Exp. Ther. 192:531-537, 1975.
114. Simon, E. J. y col.: The opiate Receptors. Neurochem. Res. 1:3-28, 1976.
115. Satoh, M., Zieglansberger, W., Fiesw y Herz, A.: Brain. Res. 82:378-82, 1974.
116. Sosa, R. y col.: Incorporation of Labelled Aminoacids in to the Enkephalins. Febs Lett 84:195-89, 1977.
117. Smith, T. y col.: Enkephalins: isolation, distribution and Function en: opiates and Endogenous Opioid Peptides, Ed. By Kosterlitz p. 57-62, 1976.
118. Sjolund, S. y col.: Increased Cerebrospinal Fluid Levels of Endorphins After Electro-Acupunture. Acta Physiol. Scand. 100:382, 1977.
119. Segal, D.: B-Endorphin: Endogenous Opiate or Neuroleptic Science 198:411, 1977.
120. Schwartz, J.: Opiate Receptors on Catecholaminergic Neurones in Brain Elsevier/ North Holland Biomedical Press. 137-139, 1979.
121. Terenius, L.: Characteristics of the Receptor for Narcotic Analgesics and A Synaptci Plasma Membrane fraction from Rat Brain. Acta Pharmacol. Toxicol. 3:377-84, 1973.
122. Terenius, Let y col.: Increased CSF Levels of Endorphins in Chronic Psychosis. Neurosci Lett 3:157-162, 1976.
123. Terenius, L. The implications of Endorphins in Pathological States. En Characteristics and Function of opioids vol. 4 CD by van Ree pp. 143-159. Elsevier & North Holland. Amsterdan, 1978.
124. Takagi y col.: Morphine-Like Analgesia By a Nes Dipeptide, L-Tyrosyl L-Arginine (Kyo-torphin): Europ. J. Pharm. 55:109-111, 1979.
125. Tache, Y. y col.: Role of Serotonergic Pathways in Hormonal changes induced by opioid Peptides. En: Central Nervous system effect of hypothalamic hormones and other peptides. Ed. by Colni R. New York Raven Press 301-313, 1979.
126. UHL, G. y col.: Immunohistochemical Mapping of enkephalin contaning Cell Bodies Fibers and Nerveterminals in the brain stem of the rat. Brain Res. 166:75-94, 1979.
127. Urca, G.: Morphine and Enkephalin: Analgesic and Epileptic Properties. Science 197:83-86, 1977.
128. Verhoeven y Praag: Neuropeptides and their potential clinical significance Adv. Biol.. Psychiat 5:20-45.
129. Van Vugt y Meites: Influence of Endogenous opiates on anterior pituitary function Fed. Proc. Vol. 39:2533-2538, 1980.
130. Wall, P. D.: Onthe Relation of Injury to Pain The John. J. Bonica Lecture. Elsevier/ North-Holland Biomedical Press. Pain 6:253-264, 1979.
131. Watson, S. y Barchas, J.: Anatomy of the endogenous opioids peptides and related substances: The Enkephalins, B-Endorphin, B-Lipotropin and ACTH. En: Mechanisms of pain and Analgesic Compounds Ed. by Beers. pp. 227-237 Raven. Press. N.Y., 1979.
132. Wagemaker, H. y col.: The use of Hemodialysis in chronic Schizophrenia Am. J. Psychiatry 134:684-685, 1977.
133. Yang, H. y col.: Detection of Two Endorphin Like peptides in the nucleus caudatus. Neuropharmacology 17:433-35, 1978.

