

## **Bases farmacológicas de las endomorfina en el control endógeno de la nocicepción y su importancia en anestesiología de grandes especies**

**(Artículo de Revisión)**

**M.V.Z., M. en C. Cert. Anest. Vet. Clin. Del Dol. Vet., Dipl y Cert. En Anest. Vet., Cert., Dipl. En Anest., Dol. y Reanim. Dipl., En Cardiol. de Peq. Esp. Con énfasis en Cardioanestesia, Dipl. En Odontol. De Peq. Esp., Dipl. En Med. Cir. y Zoot. de Peq. Esp., Dipl. Y Cert. En Acup. Vet., Experto en Sedación, Dolor y Anestesia., Dipl. Y Cert. En Farm y Terapéutica con énfasis en Med. Del Dol Vet., Dipl. Y Cert. En Anest. De Fauna Silv. Est. de Ms. in Anesth. Vet. J. Rafael Argueta López.**

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), Toluca, Estado de México. Práctica privada en Anestesiología, Algología, Urgencias, Terapia Intensiva Veterinaria. Docencia e Investigación Biomédica. Académico, Conferencista con 16 años de Experiencia, 18 Años de Experiencia Intrahospitalaria en Anestesiología Pediátrica como adjunto de mi maestro y padre Dr. Argueta García Rafael.

### **M.C. Esp. En Anest. Gral. y Ped. Rafael Argueta García.**

Jubilado del Departamento de Ciencias Biomédicas, de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), Toluca, Estado de México. Académico-exclusividad de tiempo completo definitivo, durante 36 años. Jubilado de la Jefatura, y Adscripción del servicio de Anestesiología Pediátrica con 39 años de servicio en el Hospital para el Niño del DIFEM. Toluca, Estado de México. Práctica privada. Docencia en ciencias biomédicas. PREMIO AL MEJOR MÉDICO ANESTÉSIOLOGO PEDIÁTRA Y TRAYECTORÍA ACDÉMICA EN UNIVERSIDAD Y EN HOSPITALES PEDIÁTRICOS.

Correspondencia: Privada de José Mariano Jiménez No. 106. Colonia Morelos, Toluca, Estado de México. E-mail: [rvetmx13@hotmail.com](mailto:rvetmx13@hotmail.com), facebook: [facebook.com/rafael.argueta1](https://www.facebook.com/rafael.argueta1), Twitter: [twitter.com/ArguetaAnest](https://twitter.com/ArguetaAnest).

---

### **Resumen**

A través de investigaciones en bovinos se han identificado efectos farmacológicos, respuestas fisiológicas y conductuales de dos nuevas sustancias peptídicas de naturaleza opioide denominadas endomorfina. Las endomorfina son dos péptidos opioides, clasificados como endomorfina-1 (EM1, Tyr-Pro-Trp-

Phe-NH<sub>2</sub>) y endomorfina-2 (EM2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH<sub>2</sub>), cuyas secuencias peptídicas fueron identificadas en 1997. Estudios farmacocinéticos demostraron que estos péptidos se unen con alta afinidad de unión al receptor opioide  $\mu$  en relación con su capacidad de unión a otros subtipos de receptores opioides (kappa [ $\kappa$ ], delta [ $\delta$ ]), previamente identificados en el SNC de mamíferos. Ambos péptidos están compuestos por cuatro aminoácidos y son estructuralmente distintos de las demás sustancias opioides endógenas conocidas y que estos tienen actividad antinociceptiva a nivel central en las vías descendentes y a nivel local en todas las áreas del cuerpo de los pacientes donde se encuentren receptores opiáceos, es decir en todo el organismo como actualmente se sabe, con este conocimiento se tiene aún más el fundamento y justificación para la aplicación de fármacos opiáceos en el control del dolor perioperatorio en los procedimientos quirúrgicos en bovinos en donde actualmente se sabe que cursan con eventos álgicos desde moderados a severos y muy severos por la naturaleza de la intervención y los procesos fisiológicos que se dan en estos pacientes que han sido mal tratados en cuanto al dolor se refiere por desconocimiento y mitos ya totalmente obsoletos para la anestesiología veterinaria actual. En esta revisión con reporte de caso a través de la experiencia de los autores daremos a conocer las bases fisiológicas y farmacológicas de los opiáceos puros y sintéticos para su uso en anestesiología en bovinos y su relación con los nuevos péptidos endógenos que se han encontrado en esta especie, con el objetivo de dejar atrás viejos conceptos y mitos que han retrasado la anestesiología veterinaria en comparación con la que se practica en otros países.

**Palabras clave:** Endomorfina, nocicepción, analgesia, anestesiología veterinaria.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios relacionados con la función estructura-actividad de estos péptidos han mostrado que, al igual que la mayoría de los péptidos bioactivos endógenos de naturaleza opioide y no opioide, son vulnerables a la escisión peptídica por cortes enzimáticos mediante la exposición a distintas enzimas proteolíticas que pudiesen participar en la degradación endógena de las endomorfina, y la obtención de diversos productos de degradación. Asimismo, este artículo menciona la amplia distribución neuroanatómica que poseen las endomorfina en distintas regiones del cerebro bovino y de otras especies, particularmente en aquellas que regulan el procesamiento y la transmisión de la información nociceptiva y que, por tanto, reflejan el papel potencial de estos péptidos en procesos fisiológicos de analgesia, entre muchos otros (memoria). En este contexto, diferentes estudios basados en el empleo de ensayos inmunológicos (radioinmunoensayos y técnicas de inmunohistoquímica que requieren el uso de anticuerpos específicos generados contra las secuencias consenso de las endomorfina mostraron una amplia distribución de material inmunoreactivo a endomorfina (vg., EM1-LI, EM2-LI) en tejidos neurales de bovino y roedores. Por ejemplo, la EM1-LI mostró una distribución relativamente abundante en una gran

mayoría de las regiones del SNC de mamíferos estudiados, particularmente en la región rostral y superior del tallo cerebral, así como en el núcleo accumbens (NAc), la corteza prefrontal y frontal (PFCx), la amígdala (AMG), el tálamo (TH), el hipotálamo (HPT), el estriado (CPu) y fibras nerviosas de la raíz del ganglio dorsal (DRG). En contraste, la expresión de EMZ mostró ser muy abundante en la región de la médula espinal y en la región caudal del tallo cerebral.

La distribución de material inmunoreactivo a EM1–2 en el SNC de mamíferos mostró similitudes en cuanto a la distribución neuroanatómica reportada para otros péptidos opioides endógenos, previamente identificados (encefalinas, dinorfinas, endorfinas). Así mismo, estudios paralelos lograron identificar la presencia de EM1–2–LI en órganos periféricos (bazo, timo, células inflamatorias del tipo de macrófagos–monocitos, linfocitos y leucocitos PMN) y en plasma. Más aún, diversos estudios farmacológicos han mostrado que las actividades biológicas y respuestas fisiológicas de las EM1–2 están mediadas a través de la estimulación de los subtipos de receptores opioides  $\mu 1$  y  $\mu 2$ . Estudios de inmunohistoquímica demostraron la co-localización del receptor opioide  $\mu$  y las EM1–2 en diversas regiones del SNC de mamíferos como humanos, bovinos, equinos, cabras, perros y gatos. Esto ha permitido proponer que las EM1–2 representan una nueva familia de péptidos opioides con funciones neuromoduladoras relevantes en el SNC, las cuales intervienen en la regulación de los procesos biológicos de percepción del dolor; respuestas de estrés; funciones límbicas de placer y recompensa inducidas por incentivos naturales y/o sustancias psicotrópicas; funciones de estado de alerta y vigilia, funciones cognitivas (de aprendizaje y memoria) y actividades de regulación neuroendócrina, y como con los anteriores opiáceos endógenos pueden ser activados farmacológicamente para potencializar la analgesia que caracteriza a este extraordinario grupo farmacológico que por motivos de mala información, no ha sido utilizada a fondo en anestesiología de grandes especies; en este caso en bovinos, donde erróneamente se contraíndican por razones totalmente obsoletas. (Argueta, 2012)

Además, diversos estudios celulares han mostrado que ambos péptidos opioides son capaces de inducir la internalización aguda o endocitosis del receptor opioide  $\mu$  en células somáticas transfectadas con el ADN (ADNc) que codifica este mismo receptor opioide. Al igual que otros péptidos opioides (encefalinas), diversos estudios mostraron el catabolismo enzimático de estos péptidos amidados mediante la actividad de enzimas proteolíticas (carboxipeptidasa Y, aminopeptidasa M), lo que ha permitido sugerir que estos péptidos opioides son degradados por rutas de degradación enzimática similares que rigen para múltiples péptidos bioactivos moduladores en el SNC de los mamíferos. Al igual que otros péptidos endógenos, ambas endomorfina mostraron la capacidad de modular la liberación neuronal de neurotransmisores (DA, NA, 5-HT, ACh) y hormonas peptídicas en áreas específicas del cerebro de los mamíferos. Asimismo, **ambos péptidos mostraron una capacidad de generar efectos**

**antinociceptivos potentes en forma dosis-dependiente posterior a su administración ICV o IT en animales experimentales, además de generar respuestas de tolerancia cruzada entre ambas endomorfina y/o entre la EM1 y alcaloides opiáceos del tipo de la morfina.**

## **FISIOLOGÍA OPÍACEA EN GRANDES ESPECIES**

Los receptores de opiáceos pertenecen a la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G (GPCR: *G protein coupled receptors*) que están caracterizados por una estructura consistente en un dominio N terminal extracelular, siete dominios de transmembrana, y una parte intracelular terminal C. Estos receptores convierten señales extracelulares en una respuesta intracelular a través de la activación de proteínas G intracelulares acopladas que activan cierto número de moléculas intracelulares. Una subfamilia de los receptores de opiáceos está conformada por receptores mu, delta y kappa (MOR, DOR; KOR; también conocidos como receptores MOP; KOP y DOP), los cuales tienen una amplia distribución en el cerebro y en la médula espinal. (2,3) Estos receptores son activados por péptidos endógenos Met- y Leucoencefalinas, betaendorfinas y dinorfinas y por opiáceos exógenos como la morfina entre otros. El sistema opiáceo ha sido ampliamente estudiado, primero usando herramientas farmacológicas como la morfina y sus derivados y luego usando agonistas o antagonistas con selectividad MOR, DOR, o KOR.(4) Las acciones de activación de los receptores de opiáceos por ligandos exógenos o endógenos, modulan la nocicepción, los mecanismos de recompensa generados por consumo de opiáceos y la respuesta al estrés. La estimulación de estos receptores también influye en la función respiratoria, la motilidad intestinal y la fisiología inmune-endocrina. La clonación de receptores de opiáceos (5-9) y la manipulación genética del sistema opiáceo (por ejemplo el desarrollo de ratones —knockout) ha permitido identificar tareas específicas de los diferentes tipos de receptores. Mientras es claro que la morfina induce analgesia mediada por activación MOR, el rol de DOR en analgesia permanece poco claro, a pesar de los casos de analgesia inducida por ligandos DOR que ha mostrado estar mediada por MOR. Otros tipos de receptores de opiáceos corresponden a los receptores sigma y epsilon, de menor importancia clínica, aunque estas afirmaciones en cuanto a estos dos últimos receptores son por falta de investigaciones al respecto, de hecho en estudios realizados por los autores en donde activamos estos receptores farmacológicamente dieron resultados positivos en el control del dolor y que fue demostrado con los datos extraídos de la monitorización transanestésica y posoperatoria utilizando escalas validadas para medir la respuesta algica después del trauma, sin embargo al ser pocos los modelos que utilizamos no podemos afirmar dicha respuesta, en necesario realizar más investigación sobre este tema. (Argueta, 2012)

Los receptores de opiáceos que se encuentran a nivel pre-sináptico, actúan disminuyendo el flujo de calcio y por ende inhiben la liberación de neurotransmisores; los receptores que se localizan post sinápticamente,

hiperpolarizando la célula y de esta forma inhiben la transmisión nerviosa. Las áreas donde se ubican estos receptores están estrechamente relacionadas con las vías de transmisión del dolor como el asta dorsal de la médula espinal, la sustancia gris periacueductal o sustancia gelatinosa de Rolando, zonas del tallo como los núcleos vagales y del tracto solitario, así como áreas de la sustancia pretectal y áreas del sistema límbico y formación reticular. Se sabe que los agonistas de los receptores de opiáceos modulan la transmisión sináptica a través de mecanismos pre y postsinápticos en el sistema nervioso central. Los agonistas de los receptores mu y delta inhiben la transmisión sináptica glutamérgica en el SNC a nivel de neuronas presinápticas en el asta dorsal de la médula espinal, a nivel de la sustancia gelatinosa de Rolando que se expresa en el esquema de Rexed y que fundamenta de los autores para utilizar el tramadol en anestesiología equina bajo la técnica polimodal analgésica con resultados significativamente positivos (Argueta, 2012, Vaughan et al; 1998) y también se reporta su efecto a nivel de el mesencéfalo (10). Alternativamente, los opiáceos pueden abrir uno o más canales de potasio a través de la activación de cada receptor mu, delta o kappa y de la hiperpolarización de sus membranas, lo cual genera inhibición de la transmisión excitatoria en el sistema nervioso central incluyendo la médula espinal y las neuronas del núcleo trigeminal de la médula espinal, de gran importancia en odontanalgesia en donde los autores basan sus estudios de utilización de opiáceos por vía intraconducto en procedimiento endodónticos para inducir analgesia. Estos receptores de opiáceos en la médula espinal se encuentran principalmente en la lamina II de Rexed antes mencionada, y se han estudiado ampliamente y se ha demostrado también que la sustancia gelatinosa contiene además péptidos opiáceos endógenos como las encefalinas (Hunt, 1980, Merchantaler, 1986, Argueta, 2012) (11). Las neuronas de la sustancia gelatinosa reciben preferencialmente delgadas fibras mielinizadas A delta, y no mielinizadas de tipo C, indicando como estas neuronas participan en la transmisión nociceptiva. De igual manera, los neurotransmisores inhibitorios: glicina, GABA y L- glutamato involucran la transmisión nociceptiva de las neuronas de la sustancia gelatinosa de Rolando de la médula espinal. (12)

## **NUEVOS RECEPTORES**

Recientes estudios han identificado varios genes con nucleótidos de polimorfismos simples en los genes de los receptores de opiáceos mu 118 (OPRM1), los cuales están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso periférico y se asocian a cambios en la secuencia de aminoácidos en el gen, en el cual el nucleótido adenina es sustituido por el nucleótido guanina en el exón 1 en el nucleótido con posición 118. El resultado es un cambio del aminoácido asparagina por aspartato en el sitio del aminoácido 40. Varios estudios han ubicado el efecto biológico del OPRM1 en el sistema nervioso periférico con respecto a la afinidad de los opiáceos por los OPRM1, procesos de desensibilización y endocitosis del receptor, vulnerabilidad al abuso de sustancias (opiáceos y no opiáceos), respuesta al estrés, bloqueo de receptores, constricción pupilar inducida por opiáceos y analgesia

inducida por opioides.(13) Por otra parte, las investigaciones actuales sobre regulación autonómica endocrina y de vías de dolor, se han enfocado en el rol de los péptidos orexina A y B en el hipotálamo sobre los sistemas noradrenérgico y catecolaminérgico y en cómo estos péptidos están implicados en condiciones patológicas y fisiológicas como son el control del ciclo sueño-vigilia, del eje hipotálamo-hipófisis-glándulas adrenales y por supuesto el proceso de modulación de dolor. El conociendo de las nuevas funciones de estos neuropéptidos y sus sitios de acción lograrán grandes descubrimientos en el campo de la anestesiología humana y veterinaria. (Argueta, 2012) (14)

## FARMACOGENÓMICA DE OPIÓIDES

Los receptores de opioides son el principal sitio de acción para los opioides de uso clínico. Dos variantes de los receptores de opioides se presentan en el 5 a 10% de los Caucásicos: A1 18G y el promotor del polimorfismo G 172T. Además el alelo G1 18 no parece tener relación con la respuesta analgésica de los pacientes a la morfina o a su metabolito activo la morfina-6-glucronido, algunos datos preliminares sugieren que el alelo G está asociado con reducción de la severidad de los efectos adversos de los opioides, como son las náuseas, emesis, midriasis, y sedación. (22,23) Además, los transportadores del alelo G1 18 pueden tolerar altas dosis de opioides que otros transportadores no lo hacen. **Aunque parezca poco importante la variabilidad genética en los en los sitios de unión química de los agonistas de los receptores de opioides, es frecuente observar grandes diferencias interindividuales en los requerimientos de opioides en el periodo postquirúrgico.** Los mecanismos moleculares que explican este fenómeno sugieren, que en parte se debe a promotores de polimorfismos relacionados con grandes variaciones en el número de receptores más que en su función, y en el hecho que muchos genes y factores ambientales están involucrados en la percepción del dolor. Por otro lado, varios polimorfismos se relacionan con alteraciones en el metabolismo de los opióides. Por ejemplo la uridin difosfato glycosyl transferasa es la enzima responsable de la glucuronidación en las posiciones 3 y 6 de la morfina. Los pacientes que son homocigotos para los polimorfismos C161 T y C802T del gen de la uridin difosfato glicosil transferasa, demuestran glucuronidación más rápida que los pacientes que son heterocigotos. (24,25) Otra enzima importante en el metabolismo de los opióides en el hígado es el citocromo P450, CYP2D6, D4 y A4. (Argueta, 2012) La enzima CYP2D6 está involucrada en el metabolismo de aproximadamente el 25% de todos los medicamentos corrientemente administrados, incluyendo la conversión de la codeína a su metabolito activo: morfina, con el cual induce analgesia. Los genotipos de la enzima CYP2D6 son altamente variables entre individuos debido a genes de polimorfismos muy diferentes funcional y no funcionalmente, y también por el mecanismo de —duplicación de genes según el cual algunos individuos tienen más de dos copias del gen de CYP2D6. Esta producción adicional de CYP2D6 aparece con un tipo de alelo —salvajell de CYP2D6, cuya prevalencia varía por etnias, siendo del 0,5% en China al 29% en Etiopia y del 4 al 5% en Estados Unidos. (26) Los pacientes quienes rápidamente convierten codeína a

morfina usualmente tienen al menos un alelo del tipo —salvajell de la CYP2D6 conocido como CYP2D6\*1. A diferencia de los metabolizadores lentos de codeína (8% blancos y altas frecuencias en los otros grupos étnicos) que tienden a expresar alelos \*4, \*5 y \*6 y son virtualmente inmunes al efecto analgésico de codeína. (27) Curiosamente, la severidad de los efectos adversos de la codeína no parece estar asociado con el genotipo CYP2D6, esto explica el porqué la codeína altera la habilidad para conducir, a pesar de que en las muestras en sangre del conductor no contengan concentraciones detectables de morfina. Otro opióide influenciado por polimorfismos de CYP2D6 es el tramadol, como lo han demostrado estudios en el postoperatorio de cirugías de abdomen que requieren analgesia adicional probablemente debida a la presencia de uno o más alelos del CYP2D6\*1, por ello los autores hemos obtenido grandes resultados con este fármaco cuando lo utilizamos en asociación farmacológica (polimodal) en todas las especies incluyendo al humano. (Argueta, 2012) Este tipo de comportamiento no es consistente en los metabolizadores lentos de metadona, en la cual el metabolismo es dependiente de otros citocromos, no sólo el CYP2D6, sino también el CYP3A4, que ha mostrado ser importante en metabolismo de otros opióides incluyendo fentanil, alfentanil, sufentanil y remifentanil. Además es sorprendente ver que hay diferencias en cuanto a género, siendo el metabolismo por CYP3A4 en un 40% más rápido en mujeres que en hombres, lo que explicaría, en parte, la mayor incidencia de despertar intraoperatorio y el despertar más rápido de la anestesia total intravenosa en mujeres. (27,28) De otra parte, el gen de la catecol-O-metil transferasa (COMT) se ha relacionado también con la transmisión del dolor. Este gen es un mediador importante en el metabolismo de las catecolaminas y es un modulador de las vías adrenérgicas y dopaminérgicas, incluyendo las que se relacionan con transmisión del dolor.

## **MECANISMOS DE ACTIVACIÓN GLIAL Y DOLOR**

Son varias las investigaciones que han demostrado que las células inmunocompetentes del sistema nervioso central (glía), sus receptores y sus señales hacen parte del proceso de dolor y de la farmacodinamia de los opióides. Se sabe que la glía se encarga de iniciar y mantener la nocicepción en respuesta a lesión nerviosa periférica, también se ha documentado que la glía tiene la posibilidad de modular las acciones analgésicas de la administración crónica de opioides. La glía está conformada por astrocitos y microglías, son soportes estructurales importantes para las neuronas y para mantener la homeostasis del sistema nervioso central. Usualmente el papel de la glía es de protección inmune, aclaramiento de detritos y regulación de concentraciones iónicas del espacio extracelular. En cuanto a su papel dentro del proceso nociceptivo se sabe que la activación de la glía produce la liberación de sustancias neuroexcitatorias, incluyendo moduladores nociceptivos como el óxido nítrico, las prostaglandinas, los aminoácidos excitatorios, los factores de crecimiento, las citocinas proinflamatorias: como la Interleuquina 1 y 6 y factor de necrosis tumoral alfa. A nivel espinal, la glía principalmente produce citocinas proinflamatorias. Todos estos procesos están implicados en la iniciación de diversos estados dolorosos

entre ellos el dolor neuropático, alodinia e hipersensibilidad secundaria en el ABC de la injuria tisular propuesta por los autores (Argueta, 2012). De ahí que se hagan comparaciones entre los mecanismos productores de las neuropatías y el proceso de activación glial en dolor. Por otro lado se ha encontrado que las sustancias proinflamatorias derivadas de la activación glial actual sobre receptores de opiáceos no clásicos, en este caso sobre los receptores —que semejan peajesll: toll like receptors (TLR), los cuales se encuentran muy relacionados con dolor neuropático. Los sistemas opiáceos han sido estudiados a través de herramientas farmacológicas, clonado de receptores y manipulación genética (ej: ratones knockout). Se ha demostrado la analgesia inducida por la morfina a través del MOR, pero el papel del DOR no es claro, en algunos casos se ha demostrado analgesia inducida por ligandos DOR mediados por MOR. Otro mecanismo de estudio reciente es la heterodimerización de MOR y delta en la pérdida de la potencia analgésica de los opiáceos y en el desarrollo de tolerancia. El uso de opiáceos en el tratamiento del dolor crónico es limitado por el rápido desarrollo de tolerancia y dependencia física. La tolerancia es definida como la gradual pérdida de potencia de la droga o eficacia y se asocia con una reducción de la duración de acción. Son necesarios incrementos de la dosis para mantener el mismo efecto analgésico, aumentando la probabilidad de efectos secundarios como náuseas, constipación y depresión respiratoria. La tolerancia ha sido demostrada, especialmente cuando se usan para tratamiento de dolor neuropático donde los opiáceos tienen baja eficacia analgésica y rápido desarrollo de tolerancia. La tolerancia cruzada se observa con facilidad en el manejo de pacientes con tratamientos crónicos con opiáceos solos, pero esto se anula cuando son utilizados en asociación multimodal con asociación también de coadyuvantes farmacológicos y no farmacológicos como la electroacupuntura y el TENS. El mecanismo es pobremente entendido, las teorías sugieren adaptación a múltiples niveles. (Argueta, 2012)

## **ADAPTACIÓN A NIVEL DE REDES NEURALES**

La adaptación asociada al desarrollo de tolerancia involucra actividad alterada de aminoácidos excitatorios, neuropéptidos y mensajeros intracelulares. La transmisión del dolor involucra el uso de aminoácidos excitatorios (glutamato, aspartato) y neuropéptidos {CGRP (calcitonin-gene related peptide) y sustancia P} que son liberados desde la neurona aferente y actúan sobre receptores postsinápticos (NMDA, CGRP y NK1 (neurokinina 1); se produce el segundo mensajero. Los opiáceos disminuyen la transmisión del dolor presinápticamente por reducción en la liberación del neurotransmisor y postsinápticamente por hiperpolarización de la neurona de proyección y activación del sistema descendente opiopeptidérgico de la nocicepción, además de regular la concentración de iones que facilitan el impulso nociceptivo a través de los tractos medulares. (Argueta, 2012) La adaptación se relaciona entonces con la actividad del receptor o con la actividad del segundo mensajero y es posible reducción en la acción y desarrollo de tolerancia. El bloqueo farmacológico del receptor NMDA con antagonistas como MK-801 inhibe efectivamente el desarrollo de tolerancia espinal

a la morfina, posiblemente por incremento compensatorio de la actividad de los receptores NMDA espinales, que se oponen a la acción de la morfina. Además, los opiáceos pueden modular la liberación presináptica de CGRP y Sustancia P, los cuales actúan como antagonistas fisiológicos; los estudios con antagonistas para estas sustancias previenen parcialmente la tolerancia. Las vesículas de Sustancia P interesantemente contienen receptores para opioides Delta, implicando un posible papel de la liberación del neuroléptico en la expresión de superficie del receptor Delta y además participación en la modulación de la analgesia por opioides y en su tolerancia, los autores han utilizado estos antagonistas para evitar la tolerancia a opiáceos en tratamientos de dolores crónicos en algología, con resultados satisfactorios y es aquí donde surge una segunda pregunta de investigación. (Argueta, 2012)

## **ADAPTACIÓN A NIVEL DE RECEPTOR DE OPIOIDES**

La adaptación relacionada con el receptor de opioide incluye down-regulation y la desensibilización. La desensibilización es la pérdida de habilidad del agonista opioide de producir puntos finales farmacológicos (ej: inhibición AMPc), se ha demostrado en el tratamiento crónico de opioides. La fosforilación del receptor permite la interacción con arrestina 1 y 2, esta asociación evita la unión a proteína G y promueve la endocitosis del receptor. En la médula espinal y el ganglio de la raíz dorsal, los receptores opioides mu son transportados a lo largo de vías secretorias constitutivas, mientras que los receptores delta son retenidos en grandes vesículas de núcleo denso que contienen Sustancia P y/o CGRP. La liberación por exocitosis permite la expresión en la superficie de los receptores delta, entonces, el estímulo nociceptivo regula la inserción de DOR en la membrana sináptica (en neuronas, los receptores de opioides delta, también pueden interactuar con Sustancia P (vesículas de núcleo denso) y regular a través de la vía secretoria). El tratamiento prolongado con morfina conduce a una externalización de receptores de opioides delta, mediada inicialmente por la función de los receptores de opioides mu. En estudios con ratones para receptor mu y delta, se sugiere que la antinocicepción de los agonistas delta es mediada por la activación de los receptores mu. Varias evidencias indican que los receptores opioides mu y delta influyen en las propiedades de cada uno. Los delta son críticos en el desarrollo de tolerancia a la morfina; en casos de tratamiento crónico aumenta los delta y esto conduce a cambios en la función de los mu, tal como cambios en la respuesta a la morfina, indicando interacción funcional. Parte de la evidencia es la coexpresión de MOR y DOR en las mismas células del ganglio de la raíz dorsal y en las terminales axonales de la columna dorsal, eso hace posible su interacción física. Además el antagonismo de DOR con morfina espinal aumenta el efecto analgésico agudo, inhibiendo la inducción de tolerancia y revertiendo la tolerancia establecida, al ser selectivo de receptores, para esto es importante señalar que haremos referencia bibliográfica con reportes de algunos casos en donde utilizamos otros opiáceos en anestesiología bovina; ya que se tienen informes erróneos y obsoletos en cuanto a la farmacocinética y farmacodinamia de muchos de ellos en esta especie y que en la actualidad a

través de la investigación práctica de los autores queremos dar a conocer los excelentes resultados que se tienen al utilizar en protocolos analgésicos polimodales perioperatorios con opiáceos como el fentanilo, alfentanilo, tramadol, tapentadol, buprenorfina y butorfanol por vía epidural en cirugía de bovinos. (Argueta, 2012) Retomando este tema la heterodimerización de MOR con DOR promueve la formación de nuevas señales complejas a los receptores. La activación de MOR con agonistas produce activación mitogénica por proteína quinasa y fosforilación de señales extracelulares, es un mecanismo mediado por proteína G quinasa. Se encontró que los heterodímeros MOR-DOR reclutan beta arrestina que conduce a un marcador en la señalización. La fosforilación produce alteración espacial y temporal de las propiedades de MOR y DOR. El rol de la beta arrestina en la modulación de la analgesia por morfina y la tolerancia puede ser debido a la participación del heterodímero MOR DOR, es lo que concluyen varios estudios. A su vez es posible que ultra bajas dosis de ligandos MOR o DOR sean equivalentes a permitir la unión de heterodímeros y modular la acción de la morfina. La heterodimerización representa un nuevo concepto en los mecanismos de regulación de opioides en la analgesia y en la tolerancia. Significa un mecanismo blanco de desarrollo farmacológico de específicos ligandos y la posibilidad de alcanzar una analgesia sin desarrollo de tolerancia; es necesario mayores estudios en la evaluación del incremento de heterodímeros/homodímeros en el tratamiento crónico con morfina y la correlación con cambios en la unión al receptor. (Argueta, 2012)

## IMPORTANCIA EN ANESTESIOLOGÍA DE GRANDES ESPECIES

La revisión a fondo de opiáceos permite desmentir mitos en cuanto al uso de opiáceos en bovinos y equinos en donde durante muchos años fueron totalmente excluidos del arsenal farmacológico del anestesiólogo veterinario por los efectos secundarios que “pueden llegar a presentarse”, y esto solamente es posible cuando “utilizamos dosis excesivas” y con “opiáceos solos” sin asociación farmacológica y sin olvidar lo que los autores hemos dicho a lo largo de 15 años de investigación: **“todos los efectos indeseables de los fármacos analgésicos en anestesiología veterinaria son y serán a dosis dependientes”** Desde un punto de vista anestésico, revisaremos algunas de sustancias que destacan por su gran importancia en la nocicepción durante el acto quirúrgico como:

- Acetilcolina: es segregada en numerosas aéreas del cerebro bovino, pero sobre todo se encuentra en la corteza motora, ganglio basal, nervios motores de los músculos esqueléticos y ganglios autónomos. Se trata de un neurotransmisor excitador, salvo en ciertas terminaciones periféricas parasimpáticas como las fibras vagales del corazón.
- Noradrenalina: neurotransmisor de la mayoría de las terminaciones postganglionares simpáticas. Es secretada por neuronas que tienen su cuerpo en el tronco del encéfalo y en el hipotálamo de los bovinos de cualquier edad, es decir sabemos que desde la trigésima semana de gestación ya existen estas sustancias y con ello las vías donde son secretadas, por lo que un paciente veterinario que tiene más de 10 meses de gestación e incluso en aquellos donde

sólo son 2 como los caninos y 1 en caso de felinos, donde se forman estas sustancias y estructuras más rápido, esto es completamente igual como en la fisiología fetal humana y por lo tanto son capaces de experimentar procesos nociceptivos desde la vida intrauterina. (Argueta, 2012)

- Dopamina: secretada por neuronas de la sustancia negra y ganglio basal. Es un neurotransmisor inhibitorio.

- Glicina: se encuentra en la medula espinal y en la retina. Es un neurotransmisor inhibitorio.

- GABA: neurotransmisor inhibitorio segregado a nivel de la medula espinal, cerebro, ganglio basal y varias áreas de la corteza cerebral.

- Serotonina: segregada por neuronas que se originan en el tronco del encéfalo y se proyecta a varias áreas, especialmente al hipotálamo y al ADME. Inhibe rutas del dolor a nivel espinal y que interviene en el estado de ánimo. Además, ocasiona sueño, debido a su actividad inhibitoria en el cerebro.

- **Glutamato y sustancia P: el glutamato es un neurotransmisor excitador secretado en la medula espinal por las fibras A $\delta$ .** Su acción es inmediata y solo dura unos milisegundos. Diversos estudios sugieren que las fibras del dolor tipo C también podrían secretar glutamato y sustancia P. La sustancia P, también neurotransmisor excitador, **facilita la transmisión de la información sobre el dolor** y la temperatura. Se libera mucho más lentamente y su concentración se eleva durante segundos e incluso minutos. Es un neurotransmisor sensitivo de la medula espinal y **su liberación puede ser inhibida por los péptidos opioides, disminuyendo o suprimiendo el dolor.**

- **Endorfinas: neurotransmisores liberados en el tronco del encéfalo, medula espinal, tálamo e hipotálamo. Inhiben la transmisión de los impulsos dolorosos en la medula espinal.** Al hablar de sistemas inhibitorios podemos referirnos al sistema opioide endógeno, el  $\alpha 2$  adrenérgico, además de los aminoácidos inhibitorios GABA y glicina, que juegan un papel importante en la modulación inhibitoria del dolor. Probablemente, los sistemas antinociceptivos endógenos se activan de forma simultánea y actúan sinérgicamente. Este hecho es importante desde el punto de vista clínico a la hora de asociar analgésicos que actúan por diferentes mecanismos. Para producir una analgesia más efectiva, actualmente se realiza un bloqueo de los sistemas excitatorios y/o activación de los inhibitorios. **En la actualidad, la administración de fármacos capaces de estimular los sistemas inhibitorios endógenos y bloqueos excitatorios con los protocolos analgésico polimodales, constituyen la mejor alternativa para el tratamiento del dolor severo a muy severo en el hombre y en los pacientes veterinarios** (Argueta G., 2013, ARGUETA L., 2016)

## SISTEMA OPIOIDE ENDÓGENO EN GRANDES ESPECIES

**El sistema opioide endógeno en bovinos y equinos es “exactamente igual que en humanos” y tiene gran importancia debido a que es el sistema que fisiológicamente modula la transmisión nociceptiva.** (Argueta G., 2013, ARGUETA L., 2016) Los analgésicos opioides que se administran por vía exógena actúan uniéndose a los receptores opioides que forman parte de este sistema.

Está constituido por transmisores (péptidos opioides endógenos) y por receptores. (4) Los transmisores del sistema opioide endógeno clasificados hasta el momento son de naturaleza peptídica y pertenecen a varias familias independientes. Se incluyen más de veinte péptidos con actividad opioide. Todos ellos se originan a partir de moléculas inactivas que, por acción enzimática, se convierten en péptidos activos de menor tamaño. El conocimiento de lo que los autores a través de la práctica privada y la revisión de otros investigadores hacen notar que estos factores fisiológicos que inducen a la activación de las enzimas necesarios para la formación de los péptidos opioides endógenos son una herramienta útil para el entendimiento y tratamiento del dolor. Debido a su naturaleza peptídica, los opioides endógenos se inactivan rápidamente en el espacio extracelular por acción de peptidasas inespecíficas, convirtiéndose en fragmentos inactivos. Por tanto, la inhibición de estas enzimas dará lugar a un aumento en la concentración de opioides a nivel de los receptores y, como consecuencia, una mayor inhibición en la transmisión del dolor. Inicialmente fueron caracterizadas tres familias de péptidos opioides: encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Recientemente, se ha aislado en el cerebro bovino una nueva familia, las endomorfina, que tienen una gran afinidad y especificidad por los receptores mu opioide. Además de los péptidos, la morfina, la codeína y los morfinaos se encuentran de forma natural en los tejidos de los mamíferos y presentan una actividad similar a ellos. (Argueta, 2012) 11. Los receptores opioides se definen como los lugares específicos con los cuales interaccionan los agonistas opioides endógenos, exógenos y sus antagonistas para producir sus acciones y efectos clínicos. 246 En 1976, Martin, a partir de investigaciones realizadas en caninos sometidos a sección medular, menciona la existencia de tres tipos de receptores opioides: mu ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) y sigma ( $\sigma$ ). Posteriormente, Lord comunico en 1977 la existencia de otro receptor con gran afinidad por las encefalinas, el receptor delta ( $\delta$ ). Más recientemente, se propuso el receptor épsilon ( $\epsilon$ ) como el lugar de unión de las betaendorfinas. A su vez, diferentes estudios han señalado la existencia de subtipos dentro de estos receptores. Existen diversas formas de denominar a los receptores endógenos. La nomenclatura más usada se basa en símbolos griegos (mu, delta, kappa, épsilon, etc.). Los biólogos moleculares los rebautizaron como: MOR (mu), DOR (delta), KOR (kappa) y NOR (ORL1). En 1996, la IUPHAR (International Union of Pharmacology) estableció otra nomenclatura: OP1 (delta), OP2 (kappa), OP3 (mu) y OP4 (ORL1). El descubrimiento de nuevos receptores y la investigación constante de los ya conocidos hace difícil realizar una clasificación completa acorde con todos los autores. 25 La distribución de los receptores opioides en el SNC y en el periférico se ha descrito con detalle en muchas especies. Se han encontrado densidades altas de estos receptores en áreas del SNC asociadas al procesamiento de información nociceptiva, entre ellas: ADME, sustancia gris periacueductal, núcleo reticular paragigantocelular y núcleo magno del rafe. Estos receptores tienen diferentes perfiles de distribución. Aunque existen semejanzas entre especies, se puede afirmar que un mismo subtipo de receptores tiene la misma función en casi todas las especies. (Argueta G., 2012, Argueta L., 2015) Parece ser que los receptores  $\mu$  opioides están altamente concentrados en las capas superficiales del ADME, mientras que los receptores  $\delta$  se distribuyen de

forma más difusa por la sustancia gris de la medula espinal, principalmente en la región cervical y torácica. Por su parte, los receptores  $\kappa$  se encuentran en gran cantidad en las capas superficiales de la región lumbosacra de la medula. Esta densidad decrece en niveles superiores de la medula espinal. 24 Algunos sistemas orgánicos presentan receptores opioides de forma constitutiva, sin embargo, otras estructuras como la piel y las articulaciones expresan receptores opioides en presencia de procesos inflamatorios. **Existen múltiples estudios que demuestran que la inflamación aumenta la potencia de los opioides, efecto que esta mediado por los receptores opioides situados a nivel periférico. Parece ser que los receptores opioides se encuentran en los tejidos inflamados, pero serian las características de la lesión las que regularían el tipo de receptor predominante que intervendría en la respuesta.** Como mencionamos los autores **La mayor parte de los efectos mediados por los receptores opioides se producen por inhibición de la adenilciclase y la regulación de los canales iónicos de las membranas celulares (sodio  $-Na^{+}$ , potasio  $-K^{+}$  y calcio  $-Ca^{++}$ ), disminuyendo de esta forma la excitabilidad neuronal.** (Argueta G., 2013, Argueta L., 2016) 13, 15 Los receptores descritos anteriormente tienen una serie de acciones asociadas como son: (1, 22):

- Receptores  $\mu$ : se han identificado dos subtipos de este receptor,  $\mu_1$  y  $\mu_2$ . La acción analgésica de los opioides agonistas  $\mu$  esta mediada principalmente por los receptores  $\mu_1$  (analgesia supraespinal), aunque los receptores  $\mu_2$  también inducen antinocicepción (analgesia espinal). Los receptores  $\mu_2$  son los responsables de la depresión respiratoria, la inhibición de la motilidad gastrointestinal y la dependencia. **Su acción a nivel respiratorio se debe a una disminución de la sensibilidad de los centros respiratorios a la hipercapnia. Su efecto sobre la temperatura corporal varía según la especie y la dosis de agonista administrada. La hipotermia es el efecto predominante en conejos, perros y monos, mientras se puede observar hipertermia en gatos, cabras, caballos y vacas a “dosis dependiente”** (Argueta G., 2012, Argueta L., 2014). **En cobayas, ratas y ratones dosis bajas de morfina inducen hipertermia, mientras que dosis altas producen hipotermia.** La estimulación de los receptores  $\mu$  también puede provocar bradicardia, hipotensión, miosis, inmunosupresión, cambios en la secreción de hormonas, inhibición de la diuresis, trastornos motores, del apetito, del aprendizaje o de la memoria.
- Receptores  $\kappa$ : se han propuesto tres subtipos de receptores kappa, kappa1, kappa2 y kappa3. Los receptores kappa1 inducen analgesia a nivel supraespinal, mientras que los kappa3 intervienen en la analgesia espinal. Los agonistas kappa provocan disforia, desorientación, miedo, ansiedad, sedación, miosis, moderada depresión respiratoria y tienen efecto diurético.
- Receptores  $\delta$ : estos receptores parece que median en la analgesia principalmente a nivel espinal. Existen pruebas que apoyan la existencia de dos tipos de receptores delta: delta1, implicados en la modulación del dolor espinal y delta2, activos a nivel supraespinal. Los receptores delta producen analgesia, depresión respiratoria, inhibición del tránsito intestinal y están implicados en la integración motriz, el olfato y en funciones cognitivas.

- Receptores  $\sigma$ : los receptores sigma no parecen mediar en la antinocicepción. Producen excitación del SNC, ansiedad, taquicardia, taquipnea, delirio, disforia y midriasis. 8, 13

## CONSIDERACIONES FINALES

Muchas son las maneras de poder clasificarlos, de las cuales pudiera ser la potencia, como se había mencionado el fármaco de comparación es la morfina, de aquí que, alfentanil es 30 veces más potente, fentanil y remifentanil son 100 veces más potentes, sufentanil es 1,000 veces más potente que la morfina, la buprenorfina y nabufina son 10 veces más potentes, el butorfanol 7 veces más potente y el tramadol 5 veces menos potente que la morfina. Hay que tener presente que han sido creados con perfiles farmacocinéticos únicos, aunque compartan algunas de sus propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas, lo que les da la propiedad de ser diferentes aunque pertenezcan al mismo grupo. (Argueta G., 2012, Argueta L., 2013) Con lo que respecta a la rapidez del comienzo de acción de los opioides, está directamente relacionada con las propiedades fisicoquímicas y el perfil farmacocinético de cada opiáceo, es decir, la liposolubilidad, el tamaño de la molécula, el porcentaje de fármaco no ionizado a pH de 7.40, la fracción unida a proteínas, el volumen de distribución central, su volumen de distribución de efecto pico para calcular la dosis de carga o bolo, el porcentaje de decaimiento plasmático pico, el aclaramiento, la  $Ke_0-1$ , el  $t_{peak}$ , la  $t_{1/2 Ke_0-1}$  y el tiempo de equilibrio sangre-cerebro en sitio efector, mientras que parámetros como liposolubilidad, unión proteica, el porcentaje de extracción hepática, la vida media de distribución rápida (a), lenta (b) y aclaramiento, vida media de eliminación (g) junto con la dosis total administrada y la vida media sensible al contexto determinan la duración del efecto. Los opiáceos potentes, una vez administrados al torrente sanguíneo dejan el 100% del fármaco en el compartimiento plasmático o volumen central  $V_1$  (en la vía intravenosa no se cumple ningún proceso de absorción), por lo que depende del porcentaje de fármaco no ionizado a pH 7.40 y unido a proteínas plasmáticas y tisulares de cada opiáceo, para determinar la cantidad de fármaco libre, fármaco ionizado y fármaco unido a macromoléculas, que en condiciones fisiológicas en el espacio extracelular (intravascular e intersticial) se encuentran en equilibrio, la fracción ionizada del fármaco es capaz de alcanzar las membranas celulares y permitir posteriormente, gracias a su alta o baja liposolubilidad (independiente en cada opiáceo) adherirse a los receptores específicos de los cuales ya se ha hablado para ejercer su efecto clínico, mientras que a nivel intracelular la fracción libre del fármaco cruza la membrana celular y se une a los sitios ácidos fijándose a los lisosomas con pH de 4.5, de esta manera se acumula el opiáceo como el fentanil en las células de varios tejidos (células endoteliales, pulmón, músculo, intestino y grasa), ya que es una base débil, situación que le confiere mayor acumulación (13 veces) al poseer un  $V_1$  de 12 litros y un mayor volumen de distribución de efecto pico (75 litros) siendo el opioide potente que más se acumula cuando se utiliza en bolos fraccionados o perfusiones prolongadas, situación que se ve reflejada en su vida media sensible al contexto que muestra acumulación posterior a los 120 minutos

de perfusión y requiere 50 minutos aproximadamente para reducir su concentración plasmática al 50%, condición que debe considerarse para que al término de la cirugía durante el proceso de la emersión anestésica el paciente no muestre efectos secundarios (bradipnea y retardo en el despertar) que puedan dificultar su alta hospitalaria, y esto mismo aplica y debe ser considerado para cualquier fármaco opiáceo utilizado en protocolos anestésicos en bovinos o cualquier otra especie. Otra situación de la que ya hemos hecho comentarios es como va a ser administrado un fármaco anestésico, ya que su comportamiento va a ser diferente al bolo o a la perfusión. Cuando se usan en bolos (dosis única o múltiples dosis) vamos a observar una oscilación en la concentración plasmática, pudiendo quedar en la ventana terapéutica, por debajo o bien observar efectos tóxicos de un fármaco. Ya que no hay que olvidar que con esta forma de administración la posibilidad de acumulación se observa más frecuentemente. Al igual que cuando se utilizan solos, por ello los autores recomiendan la técnica polimodal para garantizar sinergia farmacológica y disminución de presentación de efectos adversos que se han reportado en bovinos a través de la historia de la anestesiología veterinaria. Por otro lado, el comportamiento de la perfusión continua, sea por cálculos manuales o bombas asistidas por computadoras en sistemas TCI, provee de diversas ventajas, dentro de las que destaca como común denominador el poder aproximar la cantidad de fármaco que se encuentra en el plasma pero más específicamente en el sitio efector responsable directo del efecto clínico, mediante modelos farmacocinéticos y farmacodinámicos basados en algoritmos matemáticos hipotéticos para cada fármaco en particular. Con lo que respecta a metabolismo hepático del fentanyl, alfentanyl, remifentanyl y sufentanyl, es a partir del sistema enzimático microsomal citocromo P450 y sus subfamilias, que así como el coeficiente de extracción de estas drogas, por lo que su aclaramiento está relacionado con el flujo sanguíneo hepático. Por lo tanto, situaciones que generen disminución del flujo sanguíneo hepático (hipoperfusión, hipotensión, hipotermia, etc.) prolongan el metabolismo y la eliminación de éstos. Otro factor que puede modificar el metabolismo de fentanyl, sufentanyl, y alfentanyl es la administración conjunta de otros fármacos que manejamos a diario como la dexametasona, prednisona, ketamina, antidepresivos entre otros, que actualmente sabemos que tiene enormes ventajas farmacológicas y fisiológicas que redundan en beneficio de los pacientes y del desempeño del anestesiólogo, ya que es el responsable principal en el quirófano “es el farmacólogo, urgenciólogo e intensivista del equipo”, por lo que es necesario saber el verdadero significado de este enunciado para la optimización de los resultados en el desempeño de este profesional de la salud. Por lo que respecta al remifentanyl su aclaramiento es elevado (40-60 mL/kg/min) le otorgan una vida media sensible al contexto corta (4 minutos), que no depende de la duración de la infusión, es decir su capacidad de acumulación es baja aún en perfusiones prolongadas. El remifentanyl es metabolizado en forma rápida y exhaustiva por esterases inespecíficas de sangre y tejidos, por lo que aunado a su modelo cinético le da un plus para brindar analgesia potente gracias a su gran predictibilidad y facilidad de titulación. Y transformándose en un fármaco de gran utilidad en el paciente renal o hepático gravemente enfermo. En el caso de los otros opiáceos como los agonistas

parciales y agonistas antagonistas aplicamos los mismos conceptos y el mismo razonamiento para utilizarlos, y es de suma importancia sobre todo para la especie bovina y equina en donde los efectos colaterales son tan temidos por los médicos veterinarios, sin embargo con esto y otros artículos de los autores y otros investigadores a través de grandes esfuerzos queremos lograr el despertar de esta gran especialidad en medicina veterinaria que es toda una realidad en esta época, y que por lo mismo ya no es tolerable ver intervenciones quirúrgicas sin la presencia de un anestesiólogo veterinario o médicos veterinarios a solas realizando intervenciones quirúrgicas abarcando más de dos o tres especialidades y subespecialidades médicas, donde por supuesto los resultados serán catastróficos y la ética y reputación del médico veterinario se verá seriamente afectada. Es por ello que la necesidad de aumentar nuestro conocimiento en anestesia y analgesia veterinaria es hoy en día una obligación de nosotros como profesionales de la salud para proporcionar todos los medios para que el cirujano pueda llevar a cabo intervenciones quirúrgicas avanzadas y con resultados satisfactorios.

## REFERENCIAS

1. **Booth NH, McDonald LE.** Farmacología y terapéutica. España. Editorial Acribia. 1998. 312- 313.
2. **Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, and Watson SJ** Anatomy of CNS opioid receptors. 1988; *Trends Neurosci.* 11: 308–314.
3. **Mansour A, Thompson RC, Akil H, Watson SJ.** Delta opioid receptor mRNA distribution in the brain: comparison to delta receptor binding and proenkephalin mRNA. *J Chem Neuroanat* 1993; 6: 351–362
4. **Rozenfeld.** MOR-DOR Heterodimer and Opiate Tolerance. *The Scientific World Journal* 2007; 7(S2): 64–73.
5. **Chen Y, Mestek A, Liu J, Hurley JA, Yu L.** Molecular cloning and functional expression of a mu opioid receptor from rat brain. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 8–12.
6. **Evans CJ, Keith DE, Morrison H, Magendzo K, Edwards RH.** Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science* 1992; 258: 1952–1955.
7. **Kieffer BL, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth CG.** The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 12048–12052.
8. **Minami M, Toya T, Katao Y, Maekawa K, Nakamura S, Onogi T, Kaneko S, Satoh M.** Cloning and expression of a cDNA for the rat kappa-opioid receptor. *FEBS Lett* 1992; 329: 291–295.

9. **Wang JB, Imai Y, Eppler CM, Gregor P, Spivak CE, Uh, GR.** mu opiate receptor: cDNA cloning and expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 10230–10234.
10. **Gomes I, Gupta A, Filipovska J, Szeto HH, Pintar JE, Devi LA.** A role for heterodimerization of mu and delta opiate receptors in enhancing morphine analgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 5135–5139.
11. **Guan JS, Xu ZZ, Gao H, et al.** Interaction with vesicle luminal protachykinin regulates surface expression of delta-opioid receptors and opioid analgesia. *Cell* 2005; 122: 619–631.
12. **Kohno E, Kumamoto H, Higashi K et al.** *Journal of Physiology* 1999; 518.(3): 803–813.
13. **Raymonda R, Romberg, Erik Olofsen, M, Hans Bijl P, et al.** Polymorphism of Opioid Receptor Gene, Does Not Protect Against Opioid induced Respiratory Depression despite Reduced Analgesic Response. *Anesthesiology* 2005; 102:522–30.
14. **Fakuda.** Multi-functions of orexin in physiological and pathological conditions-state of the art. *Masui* 2007; 56(1):2-8
15. **Xi MC, Fung SJ, Yamuy J, Morales FR, Chase MH.** Induction of active (REM) sleep and motor inhibition by hypocretin in the nucleus pontis oralis of the cat. *J Neurophysiology* 2002; 87(6):2880-8.
16. **Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, et al.** Orexin-A, a hypothalamic peptide with analgesic properties. *Pain* 2001; 92(1-2):81-90.
17. **Goldstein SAN, Bayliss DA, Kim D, Lesage F, Plant LD, Rajan S.** International Union of Pharmacology. LV. Nomenclature and molecular relationships of two-P potassium channels. *Pharmacologic in Review*. 2005; 57:527–540.
18. **Bryan, Robert M. Jr.; Joseph, Biny K.; Lloyd, Eric; Rusch, Nancy J.** Starring TREK-1: The Next Generation of Vascular K<sup>+</sup> Channels. *American Heart Association, Inc.* 2007; 101(2): 119-121
19. **Alloui A, Zimmermann K, Mamet J, et al.** TREK-1, a K<sup>(+)</sup> channel involved in polymodal pain perception. *Embo J* 2006; 25: 2368–2376.
20. **Wenrui Xie.** Ion Channels in Pain Transmission. Reprints: Wenrui Xie, Department of Anesthesiology, University of Cincinnati medical center, 231 Albert Sabin way, Cincinnati, OH 45267-0531, e-mail: xiere@ucmail.uc.edu
21. **Ken S, Stuart F.** Correlating the clinical actions and molecular mechanisms of general anesthetics. *Current Opinion in Anaesthesiology* 2007; 20: 300–306.

- 22. Lotsch J, Zimmermann M, Darimont J, et al.** Does the A118G polymorphism at the opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity? *Anesthesiology* 2002; 97:814–9.
- 23. Skarke C, Darimont J, Schmidt H, Geisslinger G, Lotsch J.** Analgesic effects of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers. *Clinical of Pharmacology Therapeutics* 2003; 73:107–21.
- 24. Uhl GR, Sora I, Wang Z.** The mu opiate receptor as a candidate gene for pain: polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7752–5
- 25. Sawyer MB, Innocenti F, Das S, et al.** A pharmacogenetic study of uridine diphosphate-glucuronosyl transferase 2B7 in patients receiving morphine. *Clinics of Pharmacology Therapeutics* 2003; 73:566–74.
- 26. Ingelman-Sundberg M.** Duplication, multiduplication, and amplification of genes encoding drug-metabolizing enzymes: Evolutionary, toxicological, and clinical pharmacological aspects. *Drug Metabolites in Review* 1999; 31:449–59
- 27. Stephen N, Palmer N, Martin Giesecke S et al.** M.D. Pharmacogenetics of Anesthetic and Analgesic Agents. 63. *Anesthesiology* 102; 3.
- 28. Kest B, Sarton E, Dahan A.** Gender differences in opioid-mediated analgesia: Animal and human studies. *Anesthesiology* 2000; 93:539–47
- 29. Hutchinson.** Opioid-Induced Glial Activation. *The Scientific World Journal* 2007; 7(S2), 98–111.

#### **CITAS EN INTERNET**

1. Birdsall NJ, Bradbury AF, Burgen AS et al. Interactions of peptides derived from the C-fragment of beta-lipotropin with brain opiate receptors [proceedings]. *Br J Pharmacol* 1976;58:460P–461P
2. Li CH, Chung D. Isolation and structure of an untrikontapeptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:1145–1148
3. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW et al. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975;258:577–580.
4. Chavkin C, James IF, Goldstein A. Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science* 1982;215:413–415.

5. Goldstein A, Tachibana S, Lowney LI et al. Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:6666-6670.
6. Meunier JC, Mollereau C, Toll L et al. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature* 1995;377:532-535.
7. Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A et al. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science* 1995;270:792-794.
8. Comb M, Seeburg PH, Adelman J et al. Primary structure of the human Met- and Leu-enkephalin precursor and its mRNA. *Nature* 1982;295:663-666.
9. Gubler U, Seeburg P, Hoffman BJ et al. Molecular cloning establishes proenkephalin as precursor of enkephalin-containing peptides. *Nature* 1982;295:206-208.
10. Noda M, Furutani Y, Takahashi H et al. Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature* 1982;295:202-206.
11. Horikawa S, Takai T, Toyosato M et al. Isolation and structural organization of the human preproenkephalin B gene. *Nature* 1983;306:611-614.
12. Nothacker HP, Reinscheid RK, Mansour A et al. Primary structure and tissue distribution of the orphanin FQ precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:8677-8682.
13. Mollereau C, Simons MJ, Soularue P et al. Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:8666-8670.
14. Okuda-Ashitaka E, Tachibana S, Houtani T et al. Identification and characterization of an endogenous ligand for opioid receptor homologue ROR-C: its involvement in allodynic response to innocuous stimulus. *Brain Res Mol Brain Res* 1996;43:96-104.
15. Fugere M, Day R. Inhibitors of the subtilase-like pro-protein convertases (SPCs). *Curr Pharm Des* 2002;8:549-562.