

# 1. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento y desarrollo de sustancias modificadoras de las respuesta biológicas ha sido siempre de interés práctico. Entre estas sustancias se encuentran los compuestos conocidos como opioides, cuyo ejemplo más representativo es el opio o adormidera, conocido desde la antigüedad por sus propiedades analgésicas y adictivas, a través del tiempo su empleo ha evolucionado en forma importante con la síntesis de derivados con mayor potencia farmacológica.

Sin embargo, si bien sus propiedades analgésicas son sumamente apreciadas en la práctica clínica, numerosos estudios han demostrado que el uso de opioides afecta en forma significativa el estatus inmunológico de los individuos; esto ha llevado a concluir que el espectro de acción de estos compuestos no se limita al sistema nervioso, sino que abarca otros como el inmune y el endocrino. Así, se ha descubierto que los opioides son capaces de interactuar con el sistema inmune en forma indirecta a través del sistema nervioso, o en forma directa a través de su interacción con receptores específicos para opioides localizados en la membrana de las células inmunes, linfocitos y macrófagos, y de esa forma modificar la magnitud y naturaleza de las respuestas inmunes.

En la actualidad existe una importante problemática relacionada con este descubrimiento y que impacta directamente en la salud pública. Los adictos a drogas como la heroína, un derivado de la morfina, se consideran un

grupo inmunológicamente comprometido a consecuencia de la actividad inmunosupresora de esta droga, además de considerarse un grupo de alto riesgo epidemiológico, entre otras cosas por el uso de agujas compartidas. Esto establece circunstancias que facilitan la transmisión y adquisición de enfermedades infecciosas y cáncer en la población.

Sin embargo existe también un aspecto prometedor en la actividad inmunomoduladora de estos compuestos. Si bien algunos opioides son inmunosupresores también se ha observado que otros tienen la capacidad de producir el efecto contrario, es decir, estimulan la respuesta inmune de los individuos. Desafortunadamente, la mayoría de estos compuestos son de naturaleza peptídica, por lo tanto su manejo y administración es difícil y su producción costosa, por ello en la actualidad se trabaja en la obtención de compuestos sintéticos opioides más afines al empleo clínico (actividad analgésica, sin propiedades adictivas o inmunosupresoras). Esto último requiere de la evaluación del efecto de estos compuestos sintéticos sobre parámetros relevantes de inmunocompetencia que nos permitan definir su potencial inmunoterapéutico. El objetivo de este trabajo es precisamente la evaluación de la capacidad inmunomoduladora de una serie de opioides no peptídicos de reciente síntesis, el cual además de aportar la caracterización de los efectos de un grupo de estos nuevos opioides sobre las funciones de linfocitos y macrófagos de humano y rata, busca aportar información útil para el diseño de futuros compuestos opioides selectivos, potentes y sin efectos secundarios.



Figura 1. La amapola o adormidera *Papaver somniferum*. El opio es un extracto de esta planta y probablemente ha sido usado por sus efectos psicoactivos durante mas tiempo que cualquier otro agente, excepto quizás el alcohol. La investigación científica de la acción química de los opiáceos comenzó con el aislamiento del ingrediente activo. En 1805, el químico Friedrich Sertürner obtuvo morfina pura de la amapola, la cual comprendía alrededor del 10% del peso de la planta (Solomon, 1996).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Opioides: generalidades

Los opioides han estado entre los agentes medicinales más importantes de diversas culturas. Han demostrado ser poderosos agentes en el alivio al dolor, pero al mismo tiempo presentan propiedades adictivas e inmunosupresoras, lo cual impacta en forma negativa sobre la salud pública. Estos problemas han estimulado la búsqueda de analgésicos potentes sin potencial inmunosupresor y adictivo.

Se sabe del empleo de extractos del opio desde hace unos 5,000 años; se han utilizado por sus propiedades analgésicas, antidiarreicas y antitusigénicas. El opio se obtiene de la planta solanácea *Papaver somniferum*, comúnmente conocida como amapola. La palabra "opio" por sí misma, deriva del nombre griego que significa "jugo", y el fármaco se obtiene del exudado lechoso que se extrae del tallo de la amapola. En 1806, el químico alemán Freiderich Sertuner aisló por primera vez el principio activo del opio dándole el nombre de morfina, en referencia a Morfeo, dios de los sueños en la literatura griega. Después del descubrimiento de la morfina sobrevino pronto el aislamiento de otros alcaloides del opio (El opio contiene más de 20 alcaloides distintos) como la codeína por Robiquet en 1832 y la papaverina por Merck en 1848. Hacia mediados del siglo XIX empezó a diseminarse por todo el mundo médico el empleo de alcaloides puros, derivados del opio (Villarejo-Díaz y cols, 2000).

Antes de continuar, es importante establecer que el término *opioides* se aplica a todos los agonistas y antagonistas con actividad del tipo de la morfina, lo mismo que a los péptidos opioides naturales, y opioides sintéticos y semisintéticos (Cuadro 1) (Reisine y Pasternak, 1996).

La búsqueda de agentes más seguros y eficaces, con menos efectos indeseables y un reducido potencial de adicción llevó al desarrollo de nuevas generaciones de analgésicos opioides con propiedades agonistas, agonistas parciales, agonistas-antagonistas y antagonistas puros. Los antagonistas de los receptores de opioides, naloxona y naltrexona fueron desarrollados en el año de 1940.

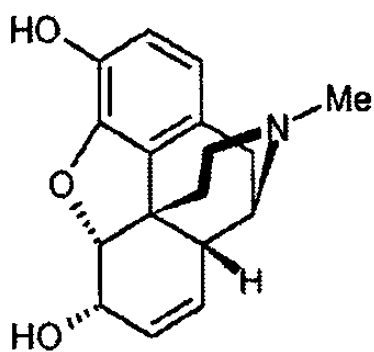
Para mediados de la década de 1960, se hizo claro que la acción de los agonistas y antagonistas opioides podía ser explicada por la acción de receptores opioides, lo cual llevó en forma lógica al razonamiento de que estos receptores debían ser el blanco de opioides endógenos.

*2.1.1. Opioides alcaloides exógenos.* El término *opiáceos* se emplea para distinguir a los fármacos derivados del opio, entre estos se encuentran la morfina, codeína y gran variedad de compuestos semisintéticos derivados de estos y de la tebaína, otro componente del opio. Los alcaloides obtenidos de *Papaver somniferum* (entre ellos la morfina) pueden clasificarse en dos clases químicas definidas: los fenantrenos y las benzilisoquinolinas. Los principales fenantrenos son morfina (10% del opio), codeína (0.5%) y tebaína (0.2%), las principales benzilisoquinolinas son papaverina (1.0%) (relajante del músculo liso), y noscapina (6.0%) (Reisine y Pasternak, 1996).

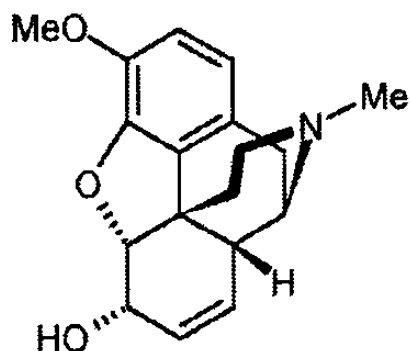
---

**Cuadro 1. Compuestos opioides.**

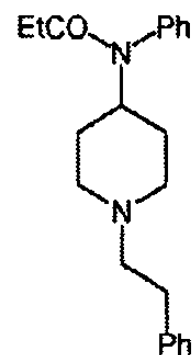
---



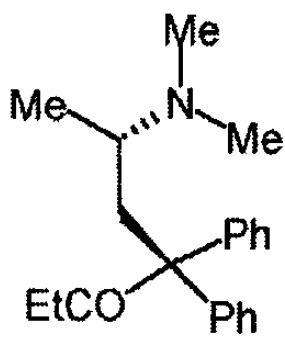
a) morfina



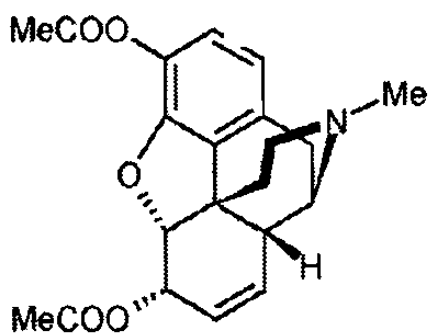
b) codeína



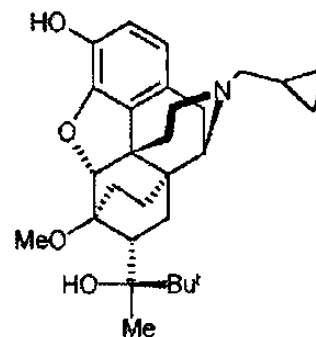
c) fentanil



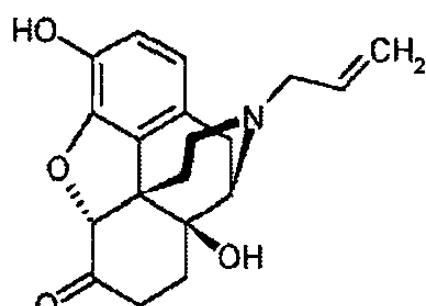
d) metadona



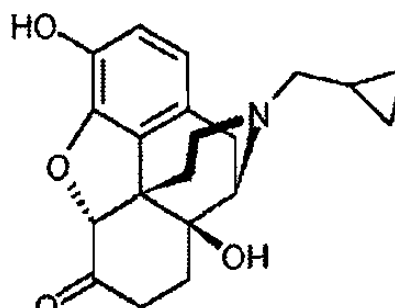
e) heroína



f) buprenorfina



g) naloxona



h) naltrexona

---

a,b) alcaloides naturales del opio

c,d) derivados semisintéticos de los alcaloides del opio

e,f) opioides sintéticos

g,h) opioides sintéticos antagonistas

---

2.1.2. *Opioides endógenos*. La palabra *endorfina* es un término genérico que se refiere a las tres familias de péptidos opioides endógenos: encéfalinas, endorfinas y dinorfinas. Cada familia deriva de un polipéptido precursor diferente y tiene una distribución anatómica característica (Cuadro 1).

De estos precursores, la proopiomelanocortina (POMC) fue aislada de la pituitaria por 3 grupos en 1979, la proencefalina fue caracterizada a partir de la médula adrenal en 1982, y la prodinorfina a partir de tejido hipotalámico en 1982. En el cuadro 2 se enlistan las secuencias de varios péptidos opioides que han sido identificados como derivados de cada prohormona (Brush y Nagase Shain, 1989).

Estos péptidos producen los mismo efectos que los químicos conocidos como alcaloides opiáceos clásicos. Los péptidos opioides endógenos funcionan como hormonas y neuromoduladores. Aquellos que funcionan como hormonas son secretadas en la circulación por las glándulas que las producen, y son liberadas a una variedad de tejidos blancos en sitios distantes en los cuales inducen una respuesta. Los péptidos opioides que sirven como neuromoduladores son producidos y secretados por células nerviosas (por ejemplo, neuronas) y actúan en el cerebro y la médula espinal para modular sus acciones sobre otros neurotransmisores (Froehlich, 1997).

#### 2.1.2.1 Endorfinas

La POMC (265 aminoácidos, Nakanishi, 1979) se rompe para formar la  $\beta$ -lipotropina ( $\beta$ -LPH, 91 aminoácidos) y la adrenocorticotropina (ACTH, 39

aminoácidos) el último, por supuesto, tiene efectos conductuales directos. La  $\beta$ -LPH, a su vez, se rompe para producir  $\gamma$ -lipotropina (58 aminoácidos) y la  $\beta$ -endorfina de 31 aminoácidos, el único péptido opioide derivado de la POMC.

#### 2.1.2.2. Encéfalinas

La proencefalina (263 aminoácidos, Noda y cols, 1982) se rompe para producir cuatro copias de Met-encefalina, una copia de Leu-encefalina, y una de Met-encefalina-<sup>8</sup> (Met-encefalina-Arg<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Leu<sup>8</sup>) y Met-encefalina-Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>. Un fragmento adicional más grande que tiene propiedades opioides, ha sido identificado. Se le conoce como péptido E, pero se encuentra principalmente en la médula adrenal y puede que no posea efectos conductuales.

#### 2.1.2.3. Dinorfinas

La prodinorfina (256 aminoácidos, Kakidani y cols, 1982) se rompe en cinco péptidos que contienen Leu-encefalina, algunos de los cuales pueden posteriormente romperse para producir el pentapéptido Leu-encefalina. Los productos más importantes con actividad opioide son la  $\alpha$ -neoendorfina,  $\beta$ -neoendorfina, dinorfina A (1-8), dinorfina A (1-7) y dinorfina B (1-13). Las dos neoendorfinas y las endorfina A (1-8) y endorfina B pueden romperse posteriormente para producir Leu-encefalina.



---

**Cuadro 2. Péptidos opioides y sus precursores**

<b>Precusores</b>	<b>Péptidos</b>	<b>Estructuras</b>
Proencefalina	Metionina-encefalina	Tir-Gli-Gli-Fen-Met
	Leucina-encefalina	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu
	Heptapéptido	Tir-Gli-Gli-Fen-Met-Arg-Fen
	Octapéptido	Tir-Gli-Gli-Fen-Met-Arg-Gli-Leu
Pro-opiomelanocortina (endorfinas)	Alfa-endorfina	Tir-Gli-Gli-Fen-Met-(1-16)
	Delta-endorfina	Tir-Gli-Gli-Fen-Met-(1-17)
	Beta-endorfina	Tir-Gli-Gli-Fen-Met-(1-31)
Pro-Dinorfina (Proencefalina B)	Alfa-Neo-Endorfina	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu-(1-10)
	Beta-Neo-Endorfina	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu-(1-9)
	Dinorfina A	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu-(1-17)
	Dinorfina A	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu-(1-8)
	Dinorfina B	Tir-Gli-Gli-Fen-Leu-(1-13)

---

Adaptado de Villarejo-Díaz, M., y cols., 2000.

---

### 2.1.3. *Opioides sintéticos no peptídicos.*

Aunque la morfina sigue siendo empleada clínicamente, la presencia de efectos indeseables (por ejemplo, depresión nerviosa, dependencia/tolerancia, efectos en el ánimo) proveen el estímulo necesario para buscar análogos que sean selectivos al producir analgesia.

Muchos derivados semisintéticos se elaboran mediante modificaciones relativamente simples de la morfina o la tebaína. Entre las propiedades importantes de los opioides que se pueden alterar mediante modificación estructural están su afinidad por las diversas especies de receptores de los opioides, su actividad como agonistas o como antagonistas, su solubilidad en lípidos y su resistencia a la desintegración metabólica. Además de morfina, codeína y derivados semisintéticos de los alcaloides naturales del opio, otras clases químicas estructuralmente diferentes poseen acciones farmacológicas semejantes a las de la morfina. Entre estos compuestos se encuentran los morfínicos, benzomorfinos, metadonas, fenilpiperidinas y propionanilidas. (Reisine y Pasternak, 1996).

Es posible concebir una evolución de estos análogos opioides, con una simplificación progresiva de su estructura química.

## 2.2. Opioides: Mecanismos de modulación a nivel celular por opioides

La actividad opioide se puede manifestar en forma endógena y exógena. Los opioides peptídicos endógenos (endorfinas, encefalinas y dinorfinas) y los opioides exógenos (como la morfina) ejercen sus efectos a través de la activación de receptores celulares de tres tipos principales, *mu*, *delta* y *kappa* (Martin, 1983; Reisine y Bell, 1993; Raynor y cols, 1994) (Cuadro 3).

Los receptores opioides en el sistema nervioso están ampliamente distribuidos central y periféricamente, por lo que no debe sorprender que tengan numerosos efectos farmacológicos (Cesselin, 1995) (cuadro 4). En el sistema inmune los opioides producen sus efectos por medio de interacciones con receptores opioides  $\mu$ ,  $\delta$ , y  $\kappa$  distribuidos en la superficie de linfocitos y macrófagos.

La unión de opioides con sus receptores lleva a la activación de proteínas G de membrana que transmitirán la señal a través de dos importantes vías, los sistemas de la adenilato ciclasa y la fosfolipasa C (este último también puede activar el sistema de la guanilato ciclasa). La activación de estas vías induce la fosforilación de proteínas lo que permite a las células responder rápidamente a diversas señales provenientes del medio extracelular. La fosforilación de proteínas es un evento crucial para diversos procesos celulares como el metabolismo intermedio, arquitectura del citoesqueleto, adhesión celular, y progresión del ciclo celular. La fosforilación de proteínas induce a los segundos mensajeros como

fosfatos de inositol, diacilglicerol,  $\text{Ca}^{2+}$ , ácido fosfatídico (ácido araquidónico), y la transcripción de nuevas proteínas (Gómez-Flores y Weber, 1999) (Figura 2).

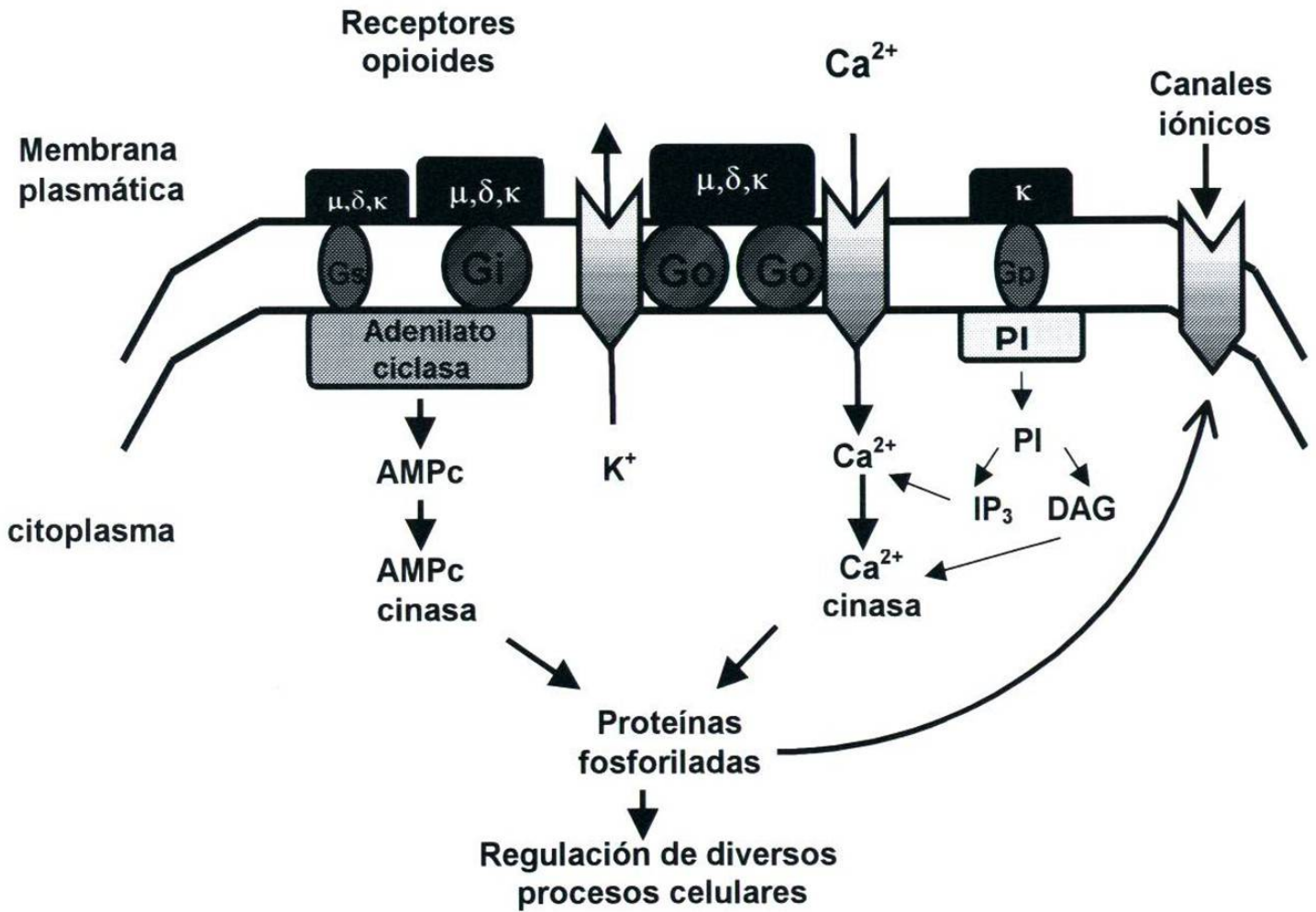


Figura 2. Ilustración esquemática de las vías de transducción de señal reguladas por opioides. (Adaptado de Nestler, 1997). AMPc, adenosin monofosfato ciclico; IP, fosfatidil inositol;  $\text{IP}_3$ , inositol trifosfato; DAG, diacilglicerol; Gs, proteínas G estimuladoras; Gi, proteínas G inhibitorias.

**Cuadro 3. Tipos de receptores selectivos de opioides**

Tipo de receptor opioide (aminoacidos)	Agonistas		Antagonistas	
	Endógenos	Exógenos	Reversible	Irreversible
$\mu$ (334-398)	$\beta$ -endorfina $\beta$ -neoendorfina	Morfina DAMGO DAMEA, DALB Fentanil Metadona Buprenorfina <sup>a</sup> Sulfentanil	CTOP Naloxona	$\beta$ -funaltrexona BIT <sup>c</sup>
$\delta$ (372)	Leu-encefalina Met-encefalina Deltorfina	SNC 80 <sup>b</sup> DPDPE DADLE	Naltrindol	SUPERFIT FIT <sup>d</sup> DALCE <sup>e</sup> UPHIT
$\kappa$ (380)	Dinorfina-A	U50,488 U69,593 Bremazocina	Nor-binaltorfina	UPHIT

<sup>a</sup> Opioide tipo agonista/antagonista

<sup>b</sup> SNC80 (+)-4-((alfa R)-alfa-((2S, 5R)-4-allyl-2, 5-dimetil-1-piperazinil)-3-metoxibenzil)-N, N-dietil-benzamida

<sup>c</sup> BIT=2-(4 -etoxibencil)-1-dietilaminoetil-5-isotiocianatobenzimidazol

<sup>d</sup> FIT= N-fenyl-N-[1-(2-(4-isotiocianato)feniletil)4-piperidinil]pro-panamida

<sup>e</sup> DALCE= [D-Ala<sub>2</sub>, Leu<sub>5</sub>, Cis<sub>6</sub>]encefalina

Adaptado de Gómez-Flores y Weber (1999b)

---

**Cuadro 4. Efectos farmacológicos de receptores opioides**

---

Receptor	Agonista	Antagonista	Efecto(s) agonista(s)
$\mu$	Morfeceptina DAGO Normorfina Sufentanil	Naloxona	Analgesia Depresión respiratoria Miosis Reducción de la motilidad gastrointestinal Náusea Vómito Euforia
$\delta$	Deltorfina DPDPE DADLE	ICI 154,126 ICI 174,864	Analgesia supraespinal
$\kappa$	U 50, 488 Trifluadom	MR2266	Analgesia (nivel espinal) Miosis (débil) Depresión respiratoria (débil) Disforia

---

DAGO, Tyr-D-Ala-Gly-mePhe-Gly-ol;  
 DPDPE, [D-Pen<sup>2</sup>, D-Pen<sup>5</sup>]encefalina; Pen, penicil-lamina;  
 DADLE, [D-Ala<sup>2</sup>, D-Leu<sup>5</sup>] encefalina;  
 Deltorfina II, Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH<sub>2</sub>;  
 Morfeceptin,  $\beta$ -casomorfina-(1-4)-amida o Tyr-Pro-Phe-Pro-NH<sub>2</sub>.

---

Tomado de Brownstein, M.J. (1993). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:5391-5393

---

Figuras 3-5. Receptores opioides *mu*, *delta* y *kappa*. La comparación de las secuencias de aminoácidos de los receptores  $\delta$  y  $\kappa$  clonados del ratón y el receptor  $\mu$  de la rata, revela que cerca de 65% de los residuos son idénticos o similares. los residuos aminoácidos que son idénticos o similares entre los receptores se muestran e color gris y los que no son similares están representados en blanco. Obsérvese que las asas intracelulares y las regiones de amplitud transmembranal I, II, III y VII son muy semejantes en sus secuencias de aminoácidos. en contraste, las terminaciones amino y carboxilo son muy diferentes, y lo son del mismo modo las asas extracelulares II y III, y la región de amplitud transmembranal IV. (Tomado de Reisine y Pasternak, 1999)

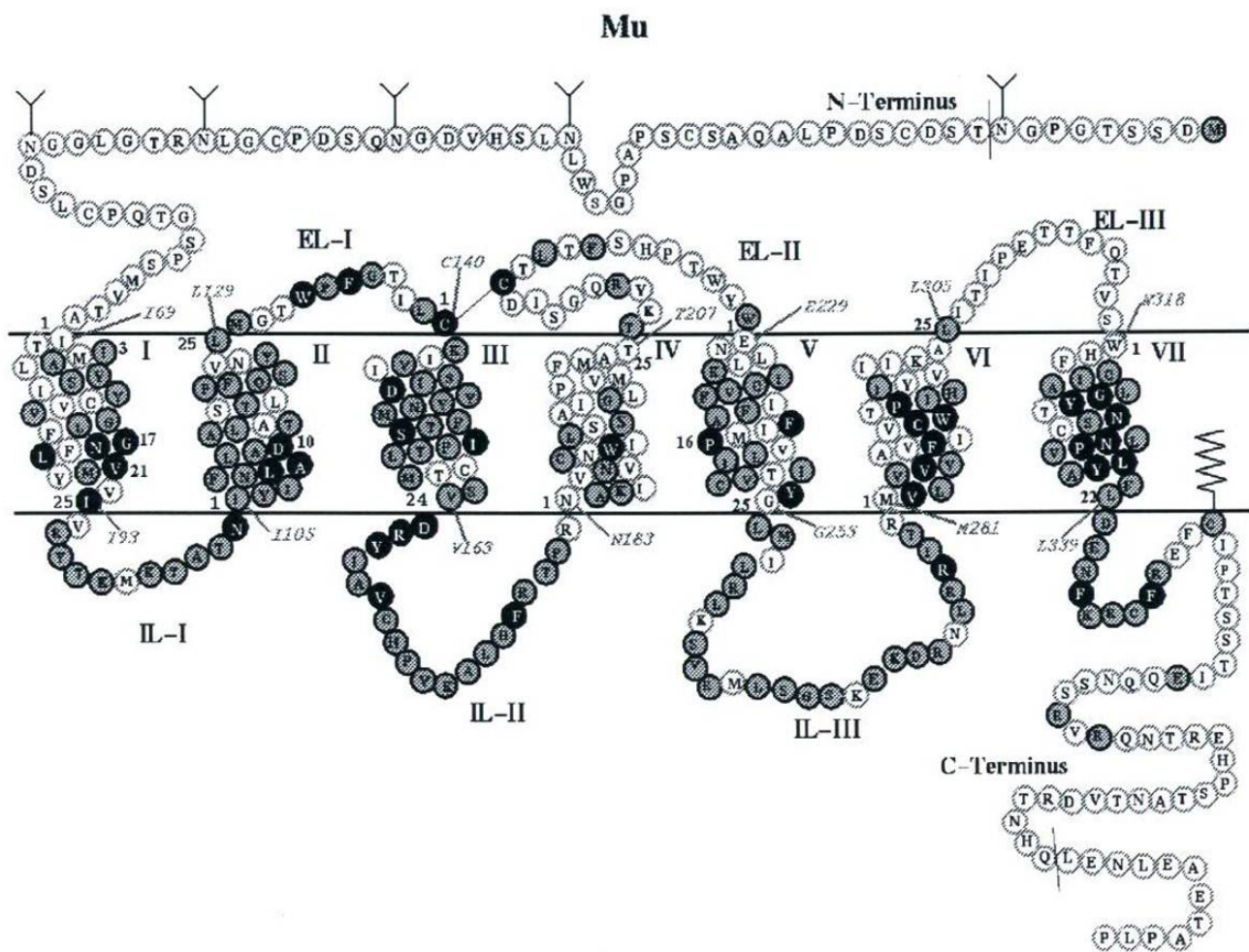


Figura 3. Receptor opioide *mu*. Los receptores *mu* se definieron al principio por su afinidad con la morfina. Diversos grupos de investigación han identificado morfina endógena en el encéfalo, lo que plantea la posibilidad de que pueda ser el ligando natural de este sitio. La morfina y otros agonistas opioides del tipo de la morfina producen analgesia primordialmente por interacción con los receptores *mu* de los opioides. Otras consecuencias de la activación de los receptores *mu*, incluyen depresión respiratoria, miosis, reducción de la motilidad gastrointestinal y sensación de bienestar y placer (euforia). Adaptado de Villarejo-Díaz, M. y cols, 2000.



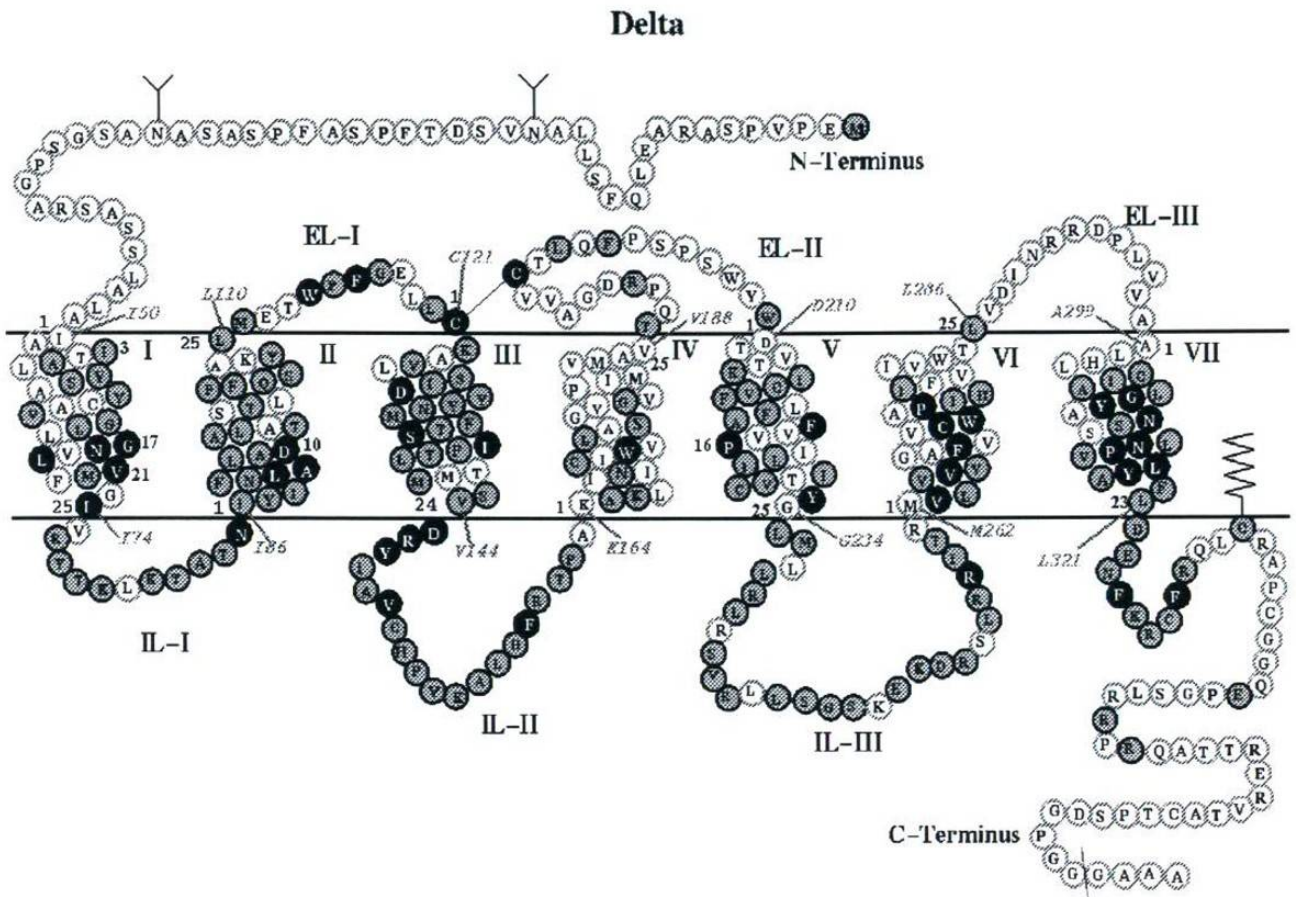


Figura 4. Receptor opioide *delta*. Las encefalinas resultan ser los ligandos endógenos de los receptores *delta*. La estimulación de los receptores *delta* produce analgesia y efectos de refuerzo positivo (potenciación) a nivel de los sitios suprarraquídeos, y antinocicepción para los estímulos térmicos a nivel de los sitios raquídeos. Adaptado de Villarejo-Díaz, M. y cols, 2000.

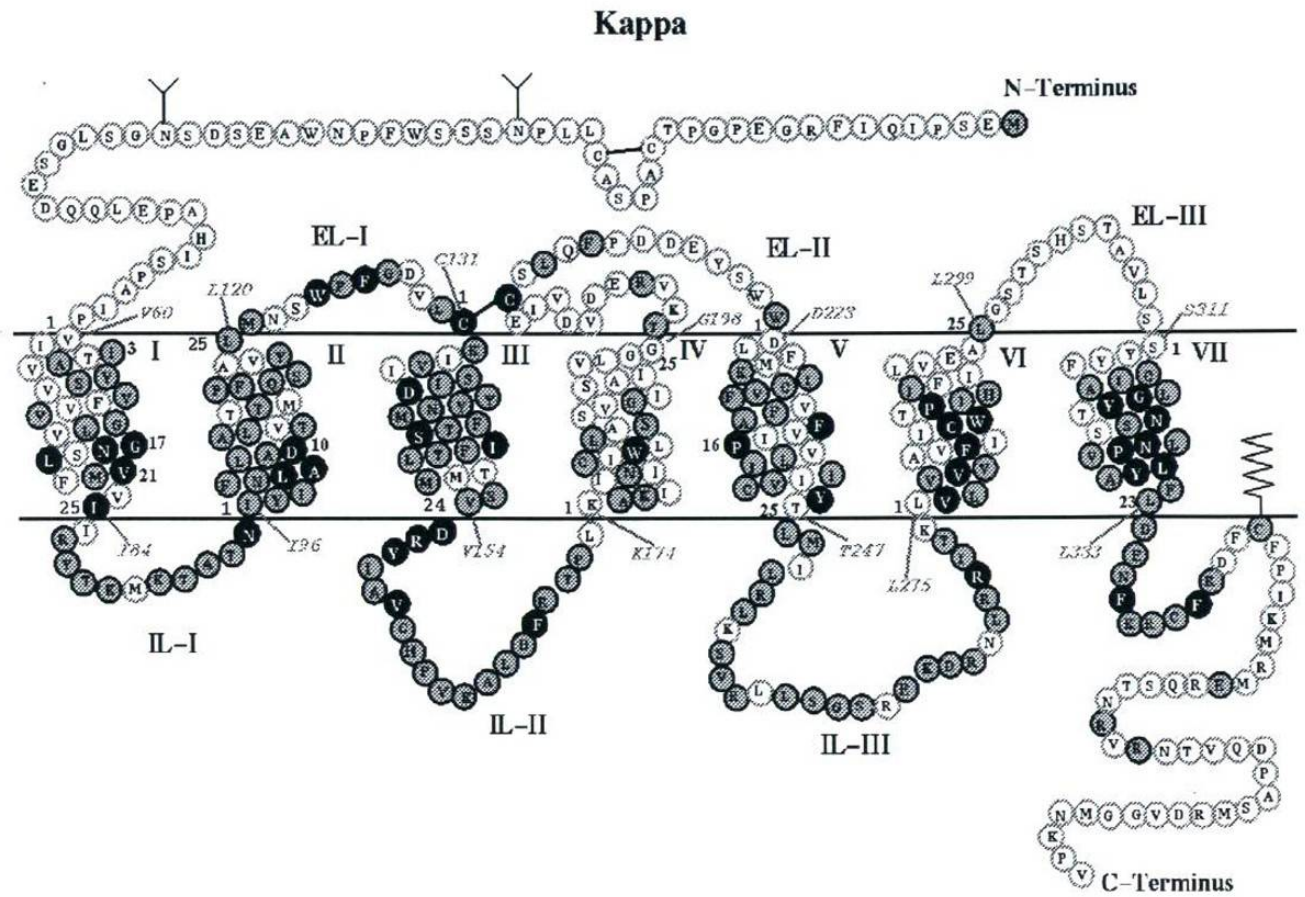


Figura 5. Receptor opioide *kappa*. Los receptores *kappa* producen analgesia a nivel raquídeo, y la dinorfina A es el ligando endógeno más selectivo del receptor *kappa*. Los fármacos que interactúan de manera selectiva con los receptores *kappa* actúan principalmente a nivel de la médula espinal, y producen miosis y depresión respiratoria similar a los agonistas *mu*. En vez de euforia, los agonistas *kappa* tienen efectos psicotomiméticos disfóricos (sensaciones de desorientación, miedo, ansiedad y despersonalización). Adaptado de Villarejo-Díaz, M. y cols, 2000.

## **2.3. Mecanismos de modulación del sistema inmune por opioides**

2.3.1. *Modulación Indirecta.* Actualmente se reconoce ampliamente la relación existente entre el sistema nervioso central (SNC) y el sistema inmune. El sistema inmune recibe señales del cerebro y el sistema neuroendocrino vía el sistema nervioso autónomo y hormonas; a su vez el, el sistema inmune envía información al cerebro vía citocinas. Se sabe que la sensibilidad del sistema inmune esta regulada en parte por este sistema de retroalimentación (Figura 6) (Dantzer y Kelley, 1989). En forma general, durante el estrés el cerebro induce la liberación de hormonas tales como los glucocorticoides, que no sólo producen analgesia, sino también causan inmunosupresión (Carr y cols, 1996; Rovee, 1992; Roy y Loh, 1996). A su vez, las células del sistema inmune liberan citocinas que afectan al SNC (Dafny, 1985). Se puede entonces inferir que una sustancia que afecte al SNC podría alterar también al sistema inmune y viceversa.

Los opioides tienen la capacidad de mimetizar el efecto del estrés en la función inmune, debido a que estos activan al sistema endocrino (Figuras 6 y 7). La modulación indirecta del sistema inmune por opioides ocurre con la activación de receptores opioides dentro del sistema nervioso central (Schurr y cols, 1981; Weber y Pert, 1989, Carr y cols, 1996; Fecho y cols, 1996, Dafny y cols, 1985, Dafny y cols, 1988, Suo y Weber, 1998). Esta ruta puede involucrar vías secundarias, incluyendo el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) (Fecho y cols, 1996) y el sistema nervioso autónomo (Brinkman y cols, 1998, Hall y cols, 1998, Fecho y cols, 1996, Carr y cols, 1994).

La vía HPA es responsable de la producción de glucocorticoides por la corteza adrenal. La liberación de glucocorticoides representa una de las principales respuestas adaptativas al estrés (Munck y cols., 1984). El incremento en la secreción de glucocorticoides que ocurre debido al estrés, es inducido por estímulos que llegan al hipotálamo provocando la liberación de la hormona liberadora de corticotropina en los vasos portales hipofisarios (Owens, 1991). Esta hormona activa la producción de corticotropina por la pituitaria. La corticotropina a su vez, estimula la secreción sanguínea de glucocorticoides (cortisol, corticosterona, aldosterona) por la corteza adrenal.

Los glucocorticoides son potentes agentes catabólicos que promueven el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos, y además movilizan las reservas de energía y sirven como antagonistas fisiológicos de la insulina. Además participan en la regulación de la respuesta inmune e inflamación y se requieren para procesos que se asocian con la respuesta del huésped. Los glucocorticoides afectan una amplia variedad de funciones de los leucocitos mononucleares y polimorfonucleares (Miller, 1998; Tanaka, 1997; Webster, 1990; Audhya, 1991; Norbiato y cols., 1997; Norbiato, 1998). En forma general, los glucocorticoides son inmunosupresores, particularmente en respuestas inmunes celulares; sin embargo, también se han asociado con incrementos en la producción de anticuerpos y sobrevivencia y diferenciación de células de timo (Vacchio y cols., 1998). Una producción excesiva de glucocorticoides (mal funcionamiento de la vía HPA, o tumores ectópicos productores de corticotropina, depresión, estrés, alcoholismo o anorexia) altera el metabolismo y la conducta, e

induce inmunosupresión, lo cual a su vez puede desencadenar una mayor susceptibilidad a infecciones o cáncer. Por el contrario, una producción deficiente de glucocorticoides (alteración primaria o secundaria de las glándulas adrenales, o resistencia esteroidal en los tejidos del huésped), hace al individuo más vulnerable al estrés e incrementa la patogénesis de enfermedades autoinmunes, inflamatorias, y alérgicas.

Además de la vía HPA, el sistema nervioso autónomo (SNA) también puede regular al sistema inmune. Se ha demostrado innervación simpática y parasimpática en los órganos linfoides. Los neuropéptidos que se liberan en los sitios de inflamación por los nervios periféricos, cumplen una función parácrina en la regulación de los procesos inflamatorios (Payan, 1987). El SNA innerva al corazón, los vasos sanguíneos, las vísceras, los músculos, las glándulas exócrinas, algunas glándulas endocrinas y los tejidos linfoides. Este sistema regula funciones que no están bajo el control de la conciencia, como la función cardiovascular, la respiración, la digestión, la excreción, la temperatura corporal, el metabolismo, la sudoración, y otras secreciones exocrinas y aspectos de las funciones inmune y endocrina.

Los tejidos más especializados en el sistema inmune los constituyen la médula ósea y el timo (tejidos linfoides primarios), el bazo y los ganglios linfáticos (tejido linfoide secundario), y los tejidos linfoides asociados a las mucosas incluyendo las amígdalas y las placas de Peyer. Existe evidencia de que los compartimientos parenquimatosos de los tejidos linfoides están innervados, lo que sugiere que el SNA regula las respuestas inmunes directamente a través de contactos celulares con células del sistema inmune, células del estroma, y células

accesorias. Estas conexiones permiten la regulación neural homeostática de las respuestas inmunes adaptativas (Valenta y cols., 1993; Downing y Kendall, 1996).

Se ha demostrado además la presencia de receptores específicos en los linfocitos para una variedad de neuropéptidos (incluyendo a la sustancia P, la somatostatina, el péptido intestinal vasoactivo inmunoreactivo, y opioides) y catecolaminas (adrenoceptores  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , y  $\beta_2$ ), mediante perfiles farmacológicos y estudios de unión de ligandos. También se ha descrito a la sustancia P, el péptido intestinal vasoactivo inmunoreactivo y la somatostatina como ligandos para las células T y B; mientras que el neuropéptido Y se une a los linfocitos de bazo. Además, se han descrito receptores para la dopamina y la acetilcolina (muscarínico y nicotínico) en los linfocitos.

Las respuesta del sistema inmune a la activación simpática (generalmente mediada a través de adrenoceptores- $\beta_2$ ), es de supresión con respecto a la respuesta inmune celular, y es potenciadora en relación a la producción de anticuerpos.



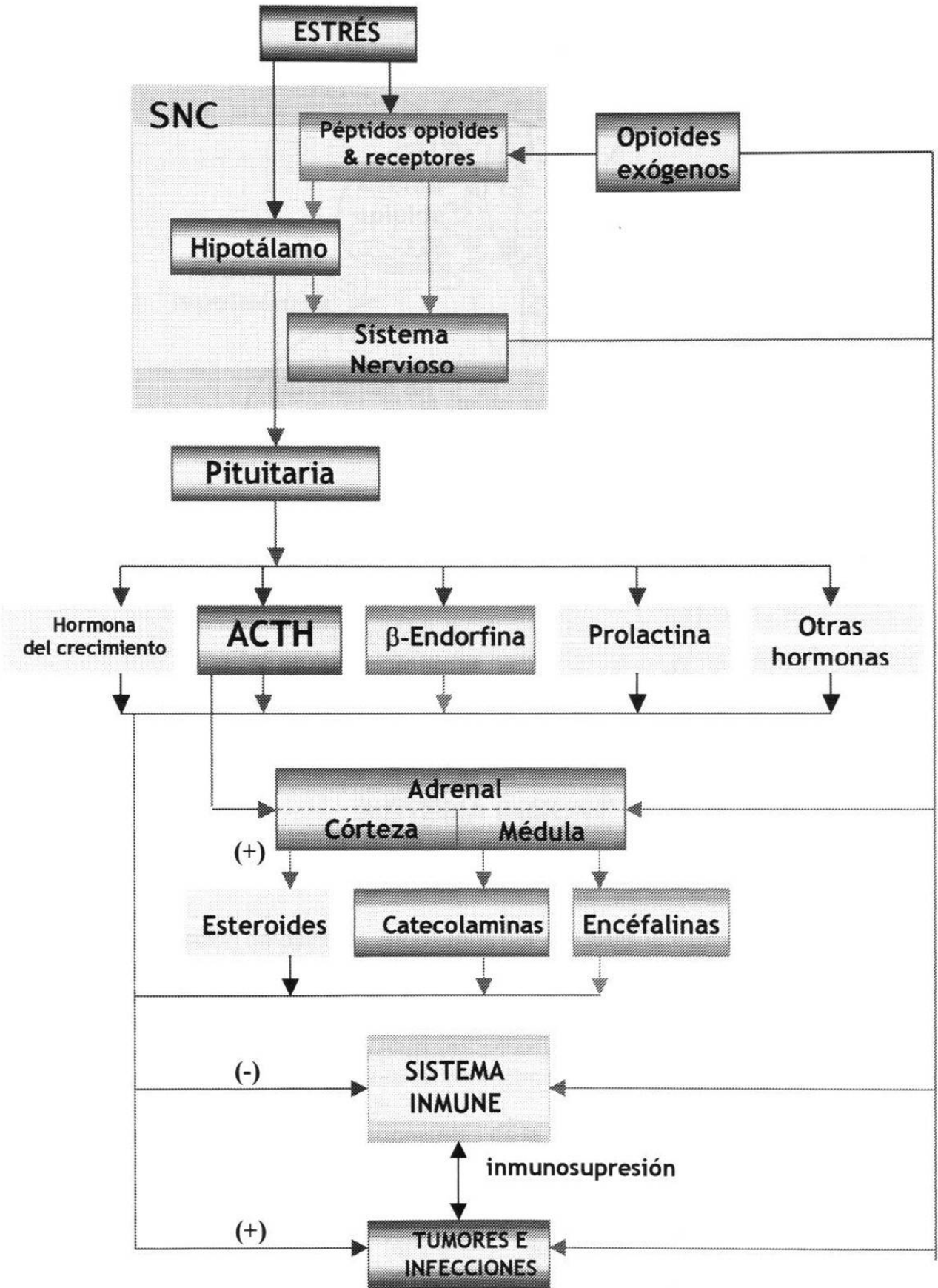


Figura 6. Sistema de retroalimentación entre los sistemas nervioso, endocrino e inmune. (Adaptado de Shavit y cols, 1985).

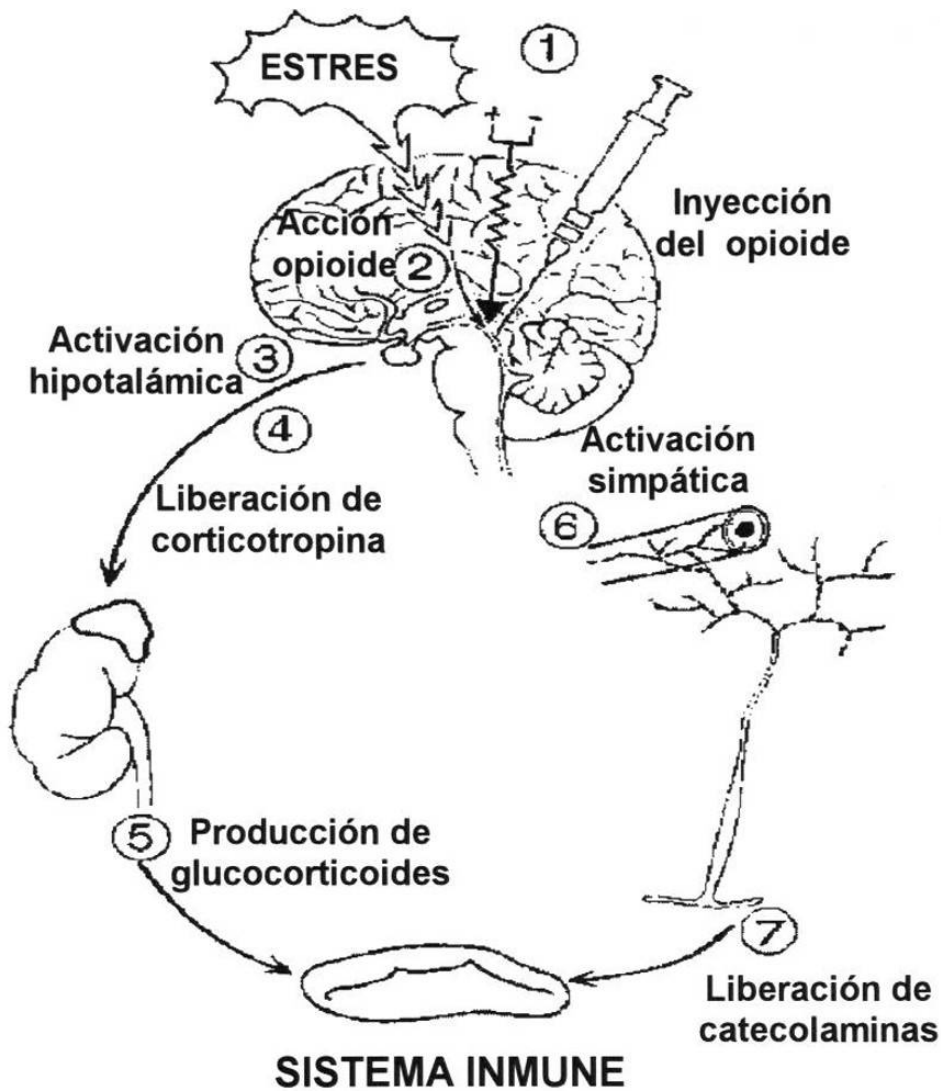


Figura 7. La liberación de opioides endógenos por el estrés, la estimulación eléctrica de la materia gris periférica al acueducto mesencefálico (PAG) mesencefálico, o la inyección de opioides exógenos puede resultar en la

2, activación de la vía hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) con la  
 3, secreción de la hormona liberadora de corticotropina, seguido de la  
 4, liberación de corticotropina y la  
 5, producción de glucocorticoides supresores de la función inmunológica.

En forma alterna, las etapas 1 y 2 podrían activar 6, al sistema nervioso simpático y estimular a las terminaciones nerviosas del tejido linfóide, lo cual induce la  
 7, liberación de catecolaminas (epinefrina, dopamina) u otros neurotransmisores inmunomoduladores causantes de inmunosupresión.

La función fisiológica de estas vías podría ser el de ayudar a restaurar alteraciones en el sistema inmune, permitiendo al organismo a volver a su estado normal, antes de que ocurriera la activación.



2.3.2. *Modulación directa.* Los opioides inducen la mayoría de sus efectos farmacológicos en el sistema nervioso (Cuadro 4), sin embargo, también interactúan con el sistema inmune alterando la función de los macrófagos, linfocitos y células NK. La actividad opioide directa sobre el sistema inmune depende de su unión a receptores de alta afinidad llamados  $\mu$ ,  $\kappa$ , y  $\delta$  presentes en la superficie de las células del sistema inmune. (Rouveix, 1992) (Figuras 3-5). Dichos receptores muestran diferentes patrones de selectividad de ligando, saturabilidad y afinidad nanomolar para los opioides (Sibinga y Goldstein, 1988). La presencia de receptores de opioides en las células del sistema inmune se han inferido en forma indirecta mediante el uso de antagonistas selectivos de receptores de opioides de las clases  $\mu$ ,  $\kappa$ , y  $\delta$ . Sin embargo, los sitios de unión de opioides a linfocitos y macrófagos se han identificado con radioisótopos o fluorocromos, o mediante la identificación de los genes responsables de la expresión de receptores de opioides (Gómez-Flores y Weber, 1999b).

La utilización de pruebas de unión competitiva con ligandos radiomarcados tales como la naloxona, la U-69593, la cis-(+)-3-metilfentanilisotio-cianato (SUPERFIT) y la dihidromorfina tritadas, o fluorocromos como el isotiocianato de fluoresceína acoplado a naltrexona y el 1-(N).fluoresceínil tiosemicarbazona de naloxona (6-FN) (Bidlack y cols, 1996; Carr y cols, 1989), ha permitido la identificación de sitios de unión de opioides en la superficie de los linfocitos y monocitos humanos (Carr y cols, 1988), linfocitos y macrófagos murinos (Patrini y cols, 1996), linfocitos, macrófagos y neutrófilos de rata (Lang y cols, 1995) y en líneas celulares murinas linfoides y mieloides (Carr y cols, 1989).

Además, se ha demostrado la expresión de genes para receptores de opioides en linfocitos y monocitos humanos (Gaveriaux y cols, 1995), linfocitos de monos (Chuang y cols, 1994), líneas celulares linfoides humanas, linfocitos humanos y líneas celulares linfoides murinas (Gaveriaux y cols, 1995), linfocitos humanos (Gaveriaux-Ruff y cols, 1995) y macrófagos de rata (Sedqui y cols, 1995), mediante la amplificación del ARN utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa. (Cuadro 5).

Cuadro 5. Presencia de receptores opioides en células del sistema inmune

Células blanco	Ensayo	Ligando/RNAm	Tipo de receptor identificado	Referencia
Linfocitos humanos y plaquetas	Unión competitiva con naloxona [ <sup>3</sup> H]	morfina y naloxona	μ	Mehrishi y Mills, 1983
Monocitos humanos	Unión competitiva con dihidromorfina [ <sup>3</sup> H]	morfina dihidroximorfina naloxona naltrexona	μ	Stefano y cols, 1993
Linfocitos, monocitos y neutrofilos de rata	Unión competitiva con naltrexona - FITC	naltrexona DADLE DAMGO	μ,δ	Lang y cols, 1995
Linfocitos humanos y de mono	Transcriptasa Reversa - PCR	RNAm	δ	Chuang y cols, 1995
Linfocitos y monocitos humanos	Transcriptasa Reversa - PCR	RNAm	κ,δ (humano) δ (ratón)	Gaveriaux y cols, 1995
Células mononucleares de sangre periférica humana	Transcriptasa Reversa - PCR	RNAm	receptor opioide huérfano	Wick y cols, 1995
Macrófagos peritoneales de rata	Transcriptasa Reversa - PCR	RNAm	μ	Sedqi y cols, 1995

Adaptado de. Gomez-Flores y Weber (1999b).

## 2.4 Modulación opioide del sistema inmune

En los procesos de defensa inmune participan una serie de células originadas en la médula ósea. Estas células son los polimorfonucleares, los monocitos y los linfocitos. Todas ellas provienen de una célula pluripotencial (o célula madre) que se multiplica continuamente a nivel de médula ósea; ésta célula da origen a grupos de células que empiezan a desarrollarse en una sola línea, ya sea la monocítica, la mielocítica o la linfocítica (Figura 8). Los monocitos al entrar en circulación y, al pasar de los vasos sanguíneos a los tejidos se transforman en macrófagos. Los linfocitos al salir de la médula ósea, migran hacia los órganos linfoides para colonizarlos y allí se multiplican. (Rojas, 1986). Los compuestos opioides son capaces de modular la naturaleza y magnitud de la respuesta de estas células durante un reto antigénico.

El caso ejemplar de esta interacción es la morfina, la cual administrada *in vivo*, suprime una variedad de respuestas inmunes en donde se afectan las funciones de las células asesinas naturales (NK), linfocitos T, linfocitos B, macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (Eisenstein y Hilburger, 1998; Weber y Pert, 1989, Gómez-Flores y cols, 1998a, 1999a, 2000). Figura 9.

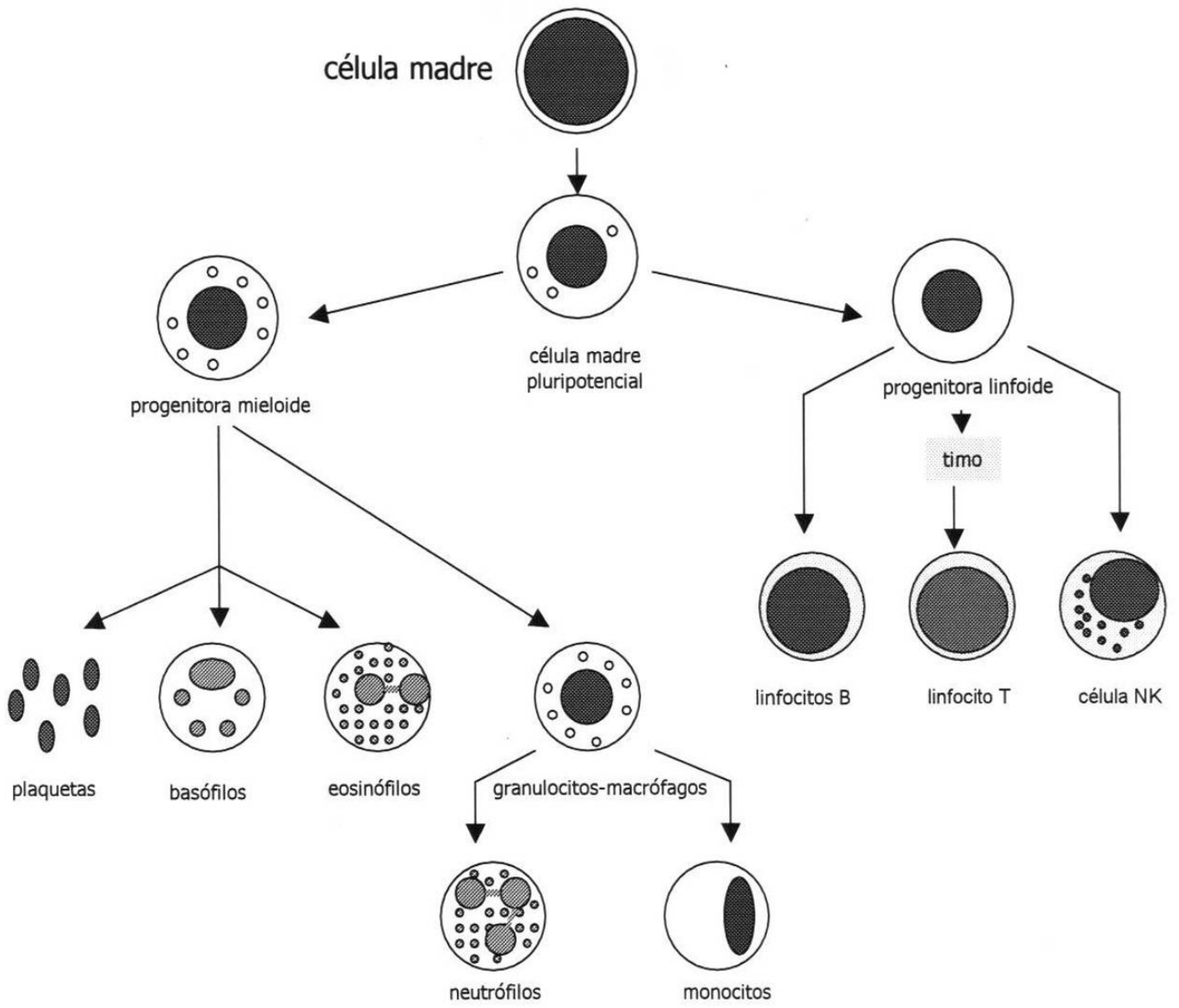


Figura 8. Generación de las estirpes celulares del sistema inmune. Adaptado de Abbas (1998).

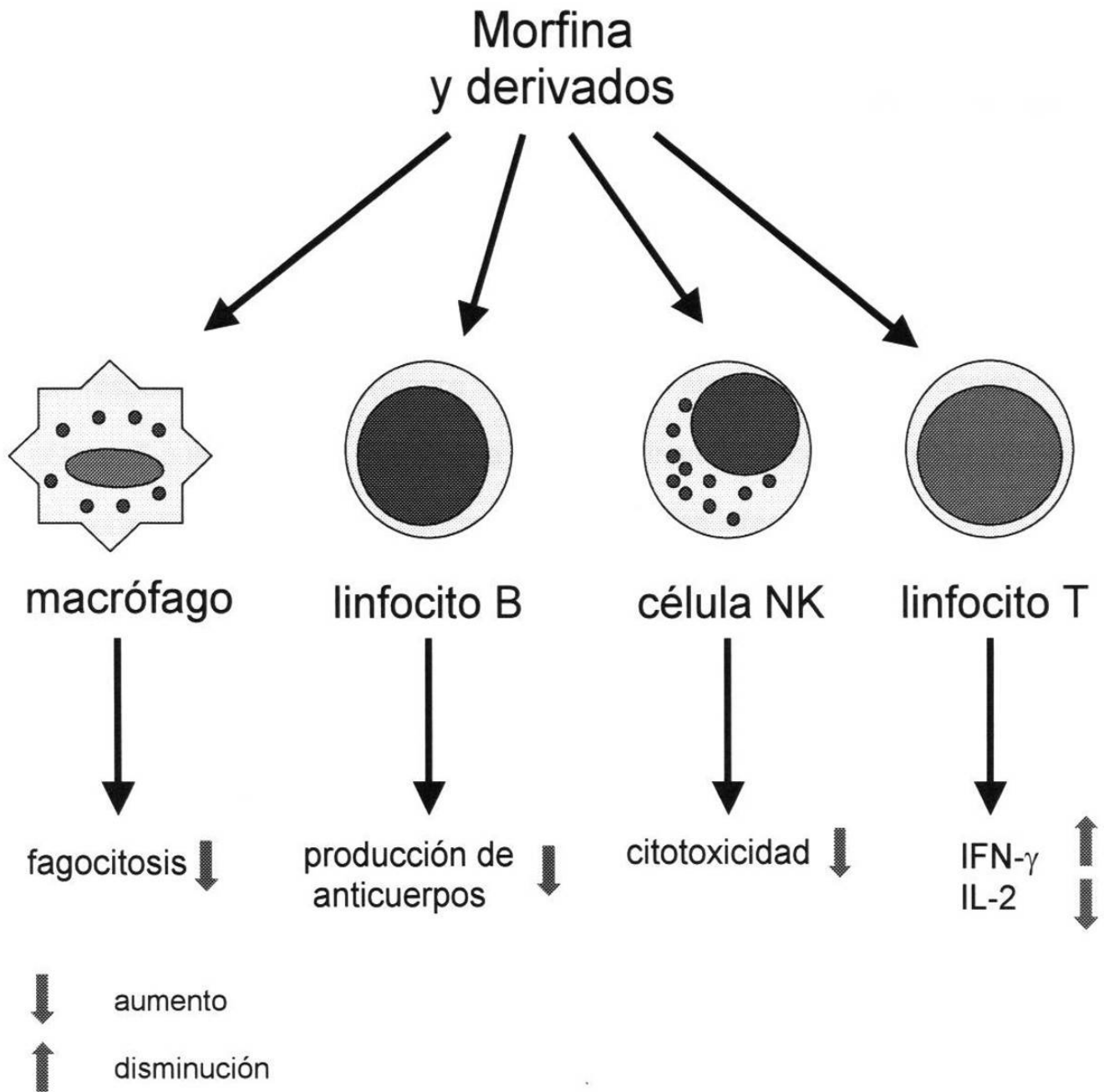


Figura 9. Modulación del sistema inmune por morfina.

#### 2.4.1 Modulación opioide de las funciones de linfocitos

Los linfocitos son responsables por la presentación de antígeno, efectos citotóxicos, y producción de anticuerpos y citocinas (moléculas que modulan la respuesta inmune) (Rojas, 1986). Los linfocitos responden al reto antigénico proliferando y expandiendo las clonas específicas de antígeno para amplificar las respuestas inmunes (Figura 10) Cualquier atenuación de la función de células T puede llevar a una amplia supresión inmunológica incrementando así la probabilidad de sufrir de cáncer o enfermedades infecciosas tales, como las causadas por el VIH y tuberculosis.

Se cree que el efecto inmunosupresor de la morfina sobre linfocitos es mediado por mecanismos indirectos, la evidencia consiste en una serie de experimentos en los cuales se emplearon ratones tratados con morfina (implantación subcutánea), en los cultivos *ex-vivo* se pudo observar que los linfocitos de bazo se volvieron disfuncionales, así como también hubo una importante supresión de la producción de células formadoras de anticuerpos. En contraste la adición directa de morfina a cultivos de linfocitos de bazo no tuvo efecto en los parámetros mencionados. Aunado a esto, la adición a los cultivos *ex-vivo* del antagonista glucocorticoide RU 38486 bloqueó la supresión de la producción de células formadoras de anticuerpo, lo que sugiere que los glucocorticoides podrían formar parte de este mecanismo indirecto de inmunosupresión (Pruett y cols, 1992).

Otros efectos relacionados con la administración de morfina incluyen la supresión de la producción de IL-2 inducida por mitógenos en ratones transgénicos, también se ha observado reducción en la actividad de las células asesinas naturales de bazo y los linfocitos citotóxicos (CTL) (Garza y cols, 1994; Carpenter y cols, 1994; Scott y Carr, 1996). La morfina tiene también un efecto supresor en la función de los neutrófilos *in vivo*, al disminuir la quimiotáxis del neutrófilo, (Deitch y cols, 1988).

La aplicación diaria de morfina suprime la actividad de las células mononucleares de sangre periférica de monos rhesus (*Macaca mulata*), las células NK, así como el porcentaje de células CD<sup>8+</sup>CD<sup>16+</sup> en comparación con los grupos no tratados (Carr y France, 1993). Estudios adicionales han mostrado que la morfina regula eventos moleculares que se manifiestan en la alteración de la función inmune, incluyendo la activación de linfocitos T y producción de IL-2 (Carr y cols, 1995).

La materia gris del acueducto del mesencéfalo (PAG) es un blanco importante de la acción de opioides y se ha sugerido la existencia de subpoblaciones de receptores opiáceos en esta área del cerebro Schurr y cols, (1981), Weber y Pert (1989), Suo y Weber (1998), y Gómez-Flores y Weber (1999a, 2000) han demostrado que la morfina inyectada en el PAG de ratas suprime las funciones de las células asesinas naturales de bazo y la respuesta proliferativa de los linfocitos T a varios mitógenos al reducir la capacidad de las células T de producir IL-2.



Sin embargo, la modulación de la respuesta inmune es un fenómeno complejo, como lo demuestran diversos estudios donde se ha observado que opioides endógenos o morfina son capaces de estimular la respuesta inmune, Kraut y Greenberg (1986) observaron que la administración intraperitoneal de morfina o (D-Ala<sub>2</sub>-Met<sub>5</sub>)-beta-endorfina, un análogo estable de la beta-endorfina, estimulan *in vivo* la actividad de las células NK de bazo.

En forma general se ha observado que los péptidos opioides pueden aumentar la generación de linfocitos CTLs (Carr y Klimpel, 1986), este efecto puede ser bloqueado por el antagonista opioide naloxona, lo cual confirma la actividad opioide. Otros efectos observados de péptidos opioides incluyen la regulación de la producción de IL-1 por  $\beta$ -endorfina, la supresión de la actividad de las células NK (Shavit y cols, 1984), la disminución en la capacidad de linfocitos para responder a estimulación mitogénica (Deitch y cols, 1988), el aumento en la generación de linfocitos CTLs por  $\beta$ -endorfina y met-enkefalina (Carr y Klimpel, 1986).

El diseño y desarrollo de opioides sintéticos con actividad analgésica y libres de las desventajas que representan la inmunosupresión y el potencial de adicción ha generado compuestos con actividad inmunomoduladora variada. El agonista opioide *mu* 4-tirosilamido-6-bencil-1,2,3,4, tetrahydroquinolina (CGPM-9), tiene un efecto dual sobre la función inmune *in vitro*, ya que produce un aumento en la respuesta proliferativa de linfocitos a la Con A y a su vez tiene un efecto supresor sobre la actividad de macrófagos peritoneales de ratas (Hicks y cols, 2001).

El fentanil (*N*-fenil-*N*-[1-2-feniletíl)-4-piperidinil] propanamida), un derivado semisintético de la morfina, al ser administrado en forma subcutánea induce supresión de la actividad de las células NK, mientras que uno de sus derivados, el OHM3295, la aumenta, ambos resultados fueron reversibles por la naltrexona (Carr y cols, 1994).

Mientras que el agonista opioide selectivo para receptores delta BW373U86 tiene un muy escaso potencial para el empleo terapéutico debido a su escasa capacidad analgésica, actividad convulsiva pronunciada y poca selectividad por los receptores *delta* y *mu* (Chang y cols, 1993, Wild y cols, 1993). Sin embargo, uno de sus derivados, el SNC80 (figura 11), sintetizado por Calderón y cols (1994), ha mostrado un gran potencial clínico ya que presenta una selectividad mucho mayor por los receptores opioides *delta* y *mu* que el compuesto original (hasta 500 veces mayor), esta selectividad además es muy parecida a la de los agonistas opioides más selectivos. Los hallazgos obtenidos de los estudios *in vivo* sugieren que el SNC80 puede ser más selectivo, eficaz y seguro que BW373U86 y puede representar un avance prometedor en el desarrollo de analgésicos (Negus y cols, 1998). Nowak y cols. (1998) encontraron que la inyección intracerebroventricular de SNC80 no tiene efecto sobre las poblaciones de linfocitos T de bazo.

Ciertos opioides sintéticos selectivos para receptor opioide delta han mostrado acción moduladora de la proliferación *in vitro* de células T estimuladas con mitógeno. Se ha demostrado que el naltrindol (NTI) suprime la respuesta inmune en la reacción mixta de linfocitos en rata (Arakawa y cols, 1993).

*In vitro*, el benzilideno-naltrexona (BNTX) (Cuadro 8, en la sección Materiales y métodos), suprime la proliferación de células B, la producción de citocinas por células T cooperadoras y la actividad de las células NK (Portoghese, 1993; House y cols, 1995)

Los estudios realizados con compuestos derivados del NTI y BNTX, muestran que los derivados del NTI inducen una mayor potenciación de la proliferación de linfocitos estimulados con mitógeno que la obtenida en las mismas condiciones con BNTX. la potenciación inducida por los derivados del NTI es dependiente de la dosis, mientras que los derivados del BNTX tienen poco o ningún efecto sobre la proliferación de linfocitos tímicos de rata (Riley y cols, 1998).

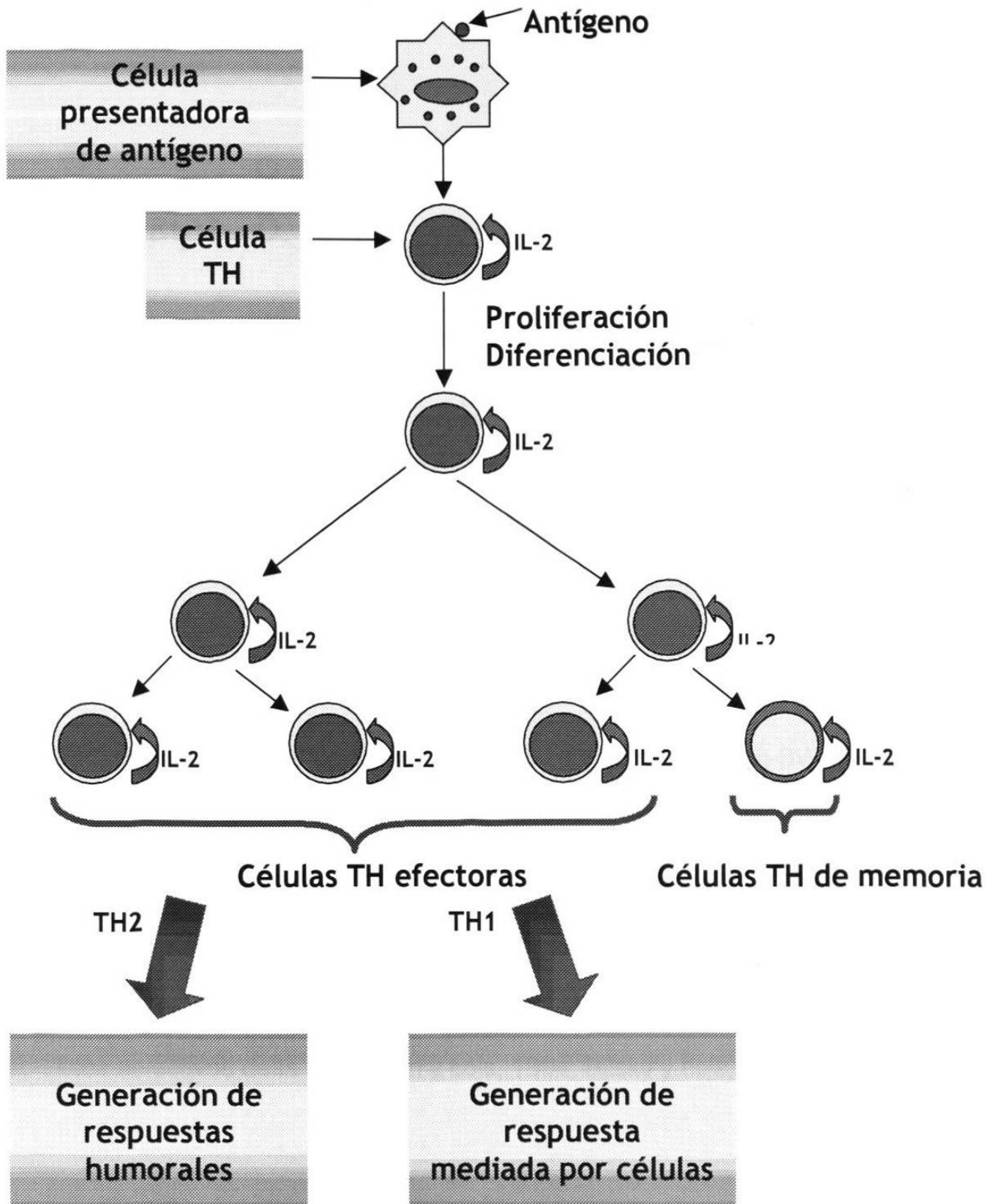


Figura 10. Proliferación clonal de linfocitos. La determinación de la proliferación de linfocitos como consecuencia de la estimulación (exposición a agentes mitogénicos, estímulos policlonales o antígenos específicos) es una técnica fundamental para estudiar las respuestas de linfocitos T.

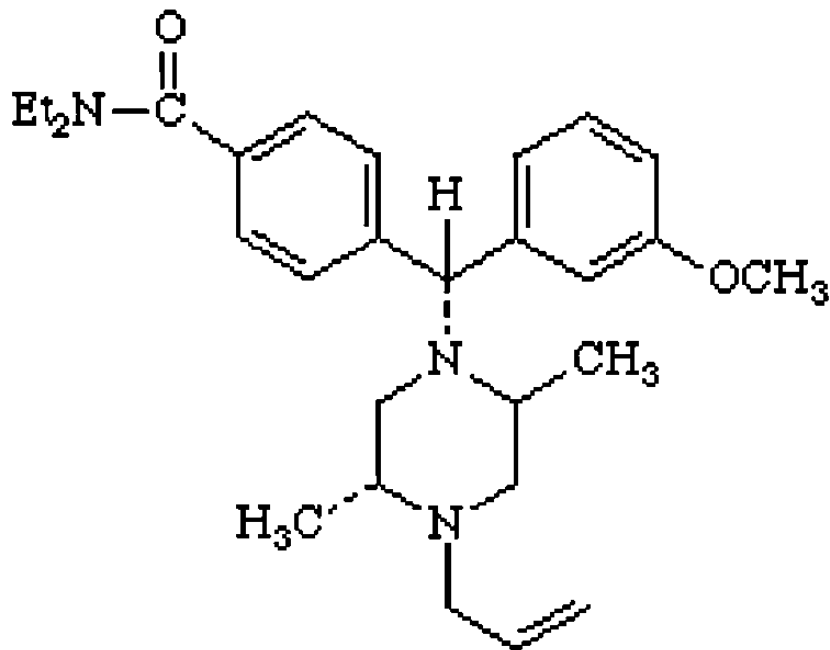


Figura 11. El SNC80 es el derivado O-metilado del compuesto (+)-BW373U86, tiene una afinidad de  $\sim 1$  nM por los receptores opioides delta. Además, el SNC80 tiene una selectividad 500 veces mayor por los receptores *delta* vs *mu*, la cual es mucho mayor que la selectividad de receptor exhibida por el compuesto BW373U86 y es similar a la de la mayoría de los agonistas peptídicos selectivos delta (Calderon y cols, 1994; Bilsky y cols, 1995)

## 2.4.2 Modulación opioide de las funciones de macrófagos

Los macrófagos pertenecen al sistema de fagocitos mononucleares, el cual incluye células que tienen un origen común y que comparten características morfológicas, bioquímicas y funcionales. Todos los macrófagos presentes en las cavidades serosas (por ejemplo, los macrófagos peritoneales) y tejidos derivan de los monocitos de la sangre que a su vez se originan de una célula precursora de la médula ósea.

Los macrófagos tienen como función esencial impedir el establecimiento y la diseminación de enfermedades microbianas (Mackaness, 1962; Steigbigel y cols, 1974) y neoplásicas (Adams y Snyderman, 1979; Adams y cols, 1982). Además, los macrófagos actúan como células accesorias en la inducción y expresión de las respuestas inmunes humoral y celular. Los macrófagos con actividad inespecífica microbiana y/o tumorícida son definidos como macrófagos "activados". La activación de macrófagos es por etapas. Los macrófagos se sensibilizan o preactivan después de un estímulo inicial (linfocinas, por ejemplo), y finalmente se estimulan por una segunda señal (por ejemplo, endotoxina). La activación de la función antimicrobiana del macrófago es esencial para la sobrevivencia de las especies en contra de patógenos intracelulares que causan algunas de las enfermedades infecciosas de mayor prevalencia e importancia en el mundo (Nathan y Gabay, 1992) (Figura 12).

#### 2.4.2.1. Modulación opioide de la producción de óxido nítrico

Uno de los principales factores antimicrobianos producidos por macrófagos murinos que son estimulados por citocinas, son los intermediarios reactivos del nitrógeno (IRN) (Bermudez y Young, 1989; Stuehr y Marletta, 1985) (Figura 13). De estos el óxido nítrico es el más estudiado de aquellos relevantes en la actividad antimicrobiana de macrófagos murinos en contra de infecciones causadas por patógenos como *Listeria*, *Mycobacterium* y *Toxoplasma* (Nathan y Hibbs Jr, 1991; Becjerman y cols, 1993; Gómez-Flores y cols, 1997a). Estudios más recientes sugieren que el óxido nítrico tiene también actividad antitumoral (Hibbs Jr y cols, 1988).

Se ha observado que la morfina y el DAMGO alteran la producción de óxido nítrico (inhibición y estimulación, respectivamente), por cultivos primarios de macrófagos de diferentes orígenes (Gómez-Flores y cols, 1998 a y b; Fecho y cols, 1996; Schneider y Lyle, 1996).

La producción de óxido nítrico por macrófagos murinos activados con LPS es inhibida por la morfina, mientras que el DPEF y la deltorfina (agonistas delta) no afectan la generación del mismo (Iuvone y cols. 1995), también se ha observado que la habilidad de la morfina para afectar la producción de óxido nítrico depende del período de activación con LPS, cuando la morfina es aplicada después de la activación con LPS no existe inhibición de la producción de óxido nítrico. Esto sugiere que la morfina podría actuar inhibiendo la inducción, mas no la actividad de la sintasa inducible de óxido nítrico, estas observaciones han encontrado apoyo en estudios posteriores.

Por ejemplo, se ha encontrado que la met-enkefalina es capaz de modular la respuesta inmune al controlar la producción de óxido nítrico por macrófagos peritoneales activados con LPS, (Kowalski, 1998), estimulándola, mientras que la enkefalina U-504,88 la disminuye, los hallazgos de este trabajo sugieren que el efecto de los opioides sobre la síntesis de óxido nítrico sucede a un nivel transcripcional, ya que en los cultivos con al menos 8 horas de activación no se observaron efectos a consecuencia del tratamiento opioide, por lo que se presume que los opioides no actúan sobre la forma activa de sintasa inducible de óxido nítrico, sino durante su transcripción .

Recientemente, Nowak y cols. (1998) observaron que la administración intracerebroventricular del SNC80 no afecta la producción de óxido nítrico inducido por interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) o LPS, por macrófagos de bazo de rata.

En contraste en los experimentos *in vitro* el SNC80 es capaz de estimular la producción de óxido nítrico producido por macrófagos peritoneales residentes de rata, estimulados con LPS. La administración intravenosa de SNC80 también activa la producción de óxido nítrico por macrófagos residentes de bazo (Gómez-Flores y cols, 2001)

#### 2.4.2.2. Modulación opioide de la producción de TNF- $\alpha$

El TNF- $\alpha$  es una de las citocinas mas pleiotrópicas conocidas, y comparte varias propiedades con otras citocinas. Se pueden distinguir dos clases de TNF: el TNF- $\alpha$  y el TNF- $\beta$ . El TNF- $\alpha$  es producido principalmente por



macrófagos activados, sin embargo, las células NK, ciertas células linfoblastoides-B, los linfocitos T, las células cebadas, los astrocitos, las células de Kupffer, las células de granulosa y las células de músculo liso también tienen la capacidad de producirlo. El TNF- $\beta$  es producido por linfocitos activados.

El TNF- $\alpha$  participa en la respuesta inmune en contra de neoplasias y enfermedades infecciosas, en remodelaje y reparación tisular y en angiogénesis además es capaz de causar hemorragia y necrosis de tumores sólidos (Rege y cols, 1992), y puede causar caquexia, que es un estado patológico que se observa durante infecciones por bacterias gram negativas, o que puede ser inducido por inyección parenteral de endotoxina. En su papel como agente antimicrobiano, el TNF- $\alpha$  promueve la resistencia inespecífica de ratones en contra de bacterias, parásitos y hongos (Rege y cols, 1992; Prant y cols, 1987; Freudenberg y Galanos, 1991; Gómez-Flores y cols, 1997a).

Se ha reportado que la morfina, la MENK y el U50, 488 inhiben la producción del TNF- $\alpha$  por macrófagos (Gómez-Flores y cols, 1998). Sin embargo otros han demostrado que la morfina y la DYN-A activan la producción del TNF- $\alpha$  por las células de microglia (Chao y cols, 1994) y macrófagos murinos (Peng y cols, 2000)

Nowak y cols. (1998) observaron que la administración intracerebroventricular del SNC80 no afectó la producción de TNF- $\alpha$  inducido por LPS por macrófagos de bazo de rata. Mientras que en los experimentos *in vitro* el SNC 80 es capaz de estimular la producción de TNF- $\alpha$  producidos por macrófagos peritoneales residentes de rata, estimulados con LPS. Además, la

administración intravenosa de SNC80 también activa la producción de TNF- $\alpha$  por macrófagos de bazo residentes y aumenta la producción de TNF- $\alpha$  por macrófagos de bazo también estimulados con LPS.

#### 2.4.2.3. Modulación opioide de la fagocitosis por macrófagos

La fagocitosis o endocitosis de parásitos por los macrófagos es la primera etapa de una serie de eventos que inducen la muerte intracelular de parásitos. Una vez que han sido ingeridos los patógenos, los macrófagos los matan mediante la generación de intermediarios reactivos del oxígeno y nitrógeno, o bien TNF- $\alpha$ .

La DAMEA, la LENK, la encefalinamida, la MENK, el DAMGO, el DPDPE y el alfentanil inhiben la fagocitosis eritrocitos de cordero y *Candida albicans* por macrófagos de diferentes orígenes (Casellas y cols, 1991, Szabo y cols, 1993, Carrera y cols, 1992, Gómez-Flores y cols, 1998).

La morfina *in vivo* también puede inhibir la capacidad de los macrófagos peritoneales para fagocitar la levadura patógena *Candida albicans*, de acuerdo a las observaciones de Tubaro y cols (1983), Rojavin y cols. (1993), Pacifici y cols. (1993)

Los resultados obtenidos en los estudios con macrófagos junto con las observaciones en linfocitos, indican que el SNC80 puede ser útil en el tratamiento del dolor en pacientes inmunocomprometidos, ya que posee

propiedades analgésicas, y tiene capacidad de potenciar las respuestas inmunológicas (Gómez-Flores y cols., 1999).

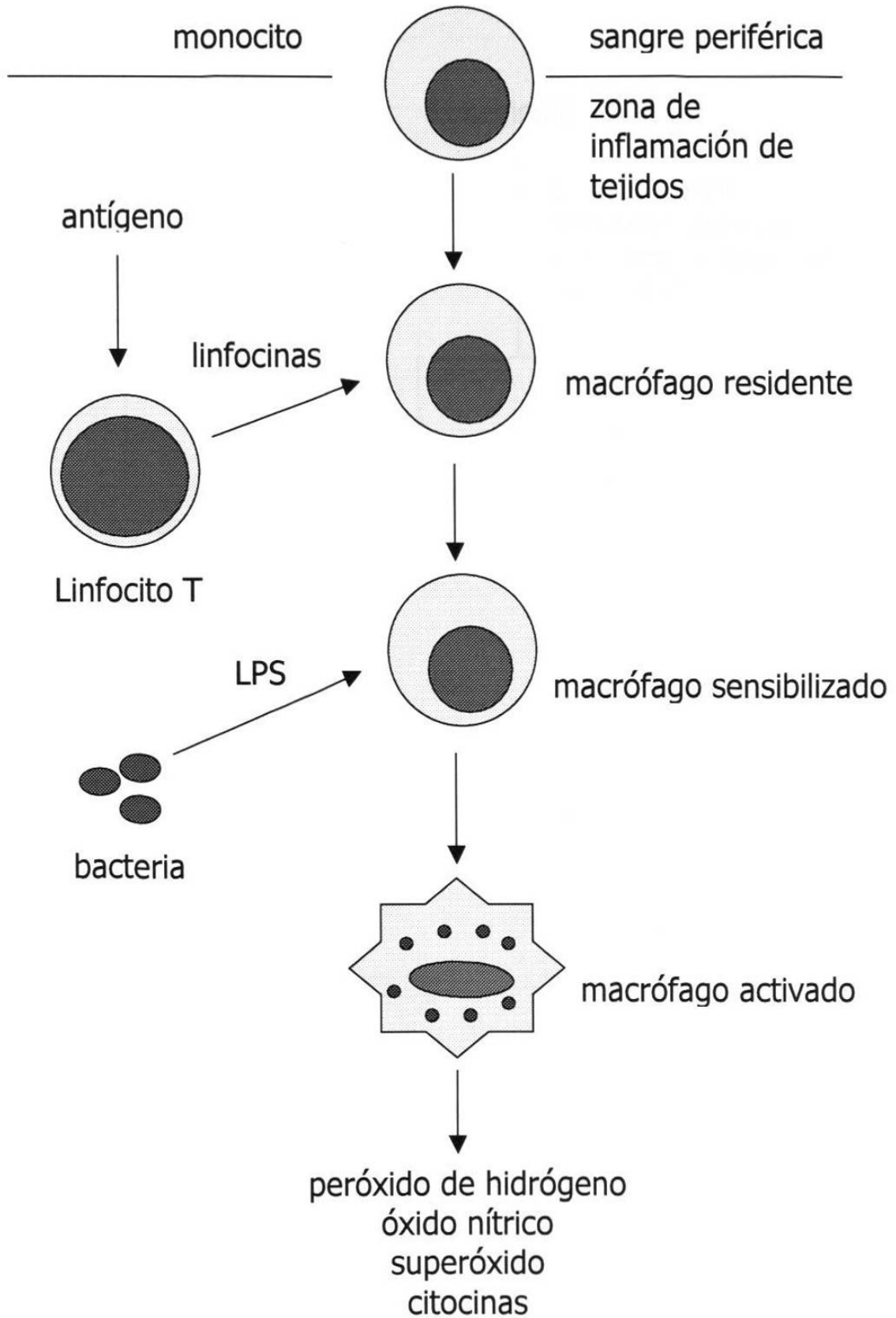


Figura 12. Activación de macrófagos. (Adaptado de Meltzer, J. Reticuloendothel. Soc. 26:403-415, 1979)

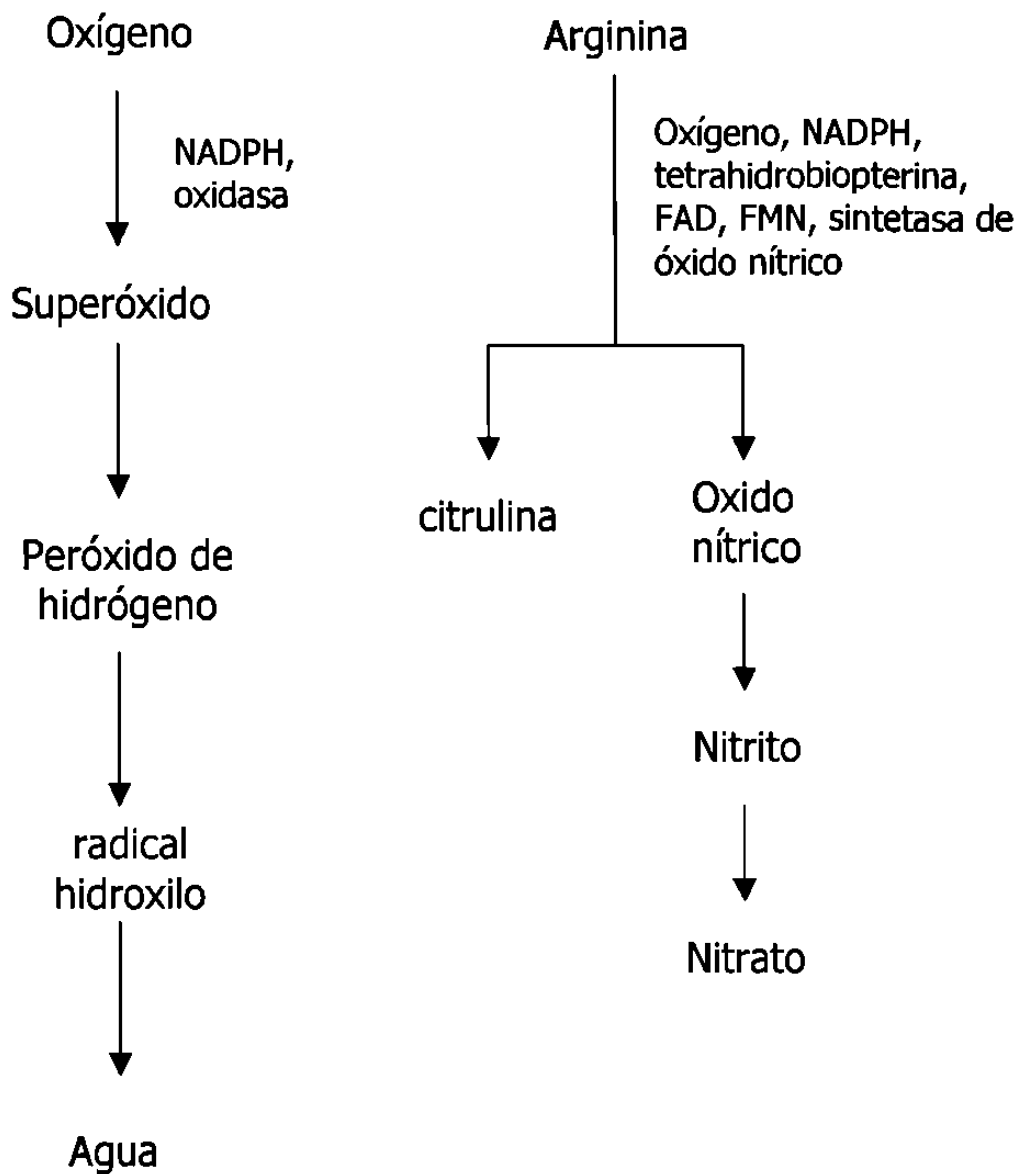


Figura 13. Vías para la producción de oxidantes inorgánicos por macrófagos activados (Adaptada de R. van Furth, Mononuclear Phagocytes, 1992).

### 2.4.3 Actividad antitumoral de opioides

El estudio del papel de los opioides en la regulación de diversos sistemas biológicos es un área que abarca numerosas disciplinas, como la neurobiología, inmunología, endocrinología y la oncología en aspectos como el papel de los opioides en la terapia del dolor crónico debido a cáncer, la conexión estrés-sistema inmune- progresión del cáncer etc. (Conti, 2000).

Existe evidencia de que el sistema de opioides endógenos puede influir sobre el crecimiento y desarrollo tumoral, y en forma general se han propuesto dos mecanismos mediante los cuales puede ocurrir esto: 1) los opioides pueden modular la respuesta inmune antitumoral del hospedero o bien 2) los opioides pueden interactuar directamente con las células tumorales para causar citotoxicidad o inhibir proliferación (Murgo y cols, 1999) (Figura 14). Esta última posibilidad involucraría la presencia de receptores opioides en la superficie de células tumorales (Cuadro 6), por lo que opioides exógenos alcaloides, o sintéticos no peptídicos podrían presentar también esta actividad.

Un ejemplo claro de la regulación opioide de la respuesta antitumoral del hospedero es la observación de que la morfina, la  $\alpha$ -END, la MENK, la LENK, la DYN-A y la  $\beta$ -END potencian la actividad antitumoral del macrófago (Pacifci y cols, 1994; Cameron, 1987; Hagi y cols, 1994). Además de esto, como ya se había mencionado previamente, los opioides mimetizan el efecto del estrés y este influye en el crecimiento y desarrollo de los tumores. El estrés, la ansiedad y estados depresivos están relacionados con la inmunosupresión y un aumento

en la frecuencia de tumores. Los opioides al igual que el estrés son capaces de activar al sistema nervioso simpático, y de esta forma modular diversos aspectos de la reactividad inmune, entre ellos el rechazo de tumores (Conti, 2000).

Se ha encontrado que analgésicos opioides empleados en la terapia del cáncer, específicamente el uso de la morfina en el tratamiento del dolor crónico, pueden influir negativamente en la efectividad de la inmunoterapia aplicada en los hospitales. Por ejemplo, la IL-2 ha resultado ser un tratamiento eficaz para el cáncer metastático renal, sin embargo, la morfina puede bloquear la eficacia de este tratamiento (Lissoni y cols, 2000).

También se ha observado que la morfina puede estimular, inhibir o no tener efecto sobre el crecimiento tumoral *in vitro* o *in vivo* dependiendo de la dosis y ruta de administración (Reubi, 1985; Ishikawa y cols, 1993). Sin embargo, existe evidencia que apoya los efectos benéficos de la morfina en la calidad de vida del paciente al reducir el estrés asociado con las consecuencias de la neoplasia, como el dolor crónico (Carr y cols, 1995) o cirugía (Page y cols, 1993).

Sin embargo, el potencial clínico de los compuestos opioides no se limita a la inmunoterapia; se han descrito receptores opioides o sitios de unión en una amplia variedad de células tumorales humanas (Cuadro 6), esto sugiere que los compuestos opioides tienen la capacidad de interactuar directamente con células transformadas e influir en su proliferación; por ejemplo, la morfina presenta actividad inhibitoria del crecimiento celular de líneas tumorales (Aggarwal y Glasel., 1999; Hatzoglou y cols, 2000; Panagiotou y cols, 1999;

Sergeeva y cols, 1993; Singhal y cols, 1999; Sueoka y cols, 1998; Yoshida y cols, 2000).

Esta actividad incluye a formas tumorales de origen inmune (linfomas y mielomas), pero también otros tipos como el cáncer de mama, próstata, pulmón, riñón e intestino (Panagiotou, 1999); la interacción entre el tumor y drogas opioides es posible debido a la presencia de receptores opioides en la superficie de las células tumorales (Maneckjee y cols, 1990 a y b ). A la fecha se han identificado receptores tipo kappa en el linfoma murino R1.1 (Bidlack y cols, 1992); y receptores mu y kappa en la superficie de la línea tumoral MCF-7 (Maneckjee y cols, 1990a).

Aunque aún no se han definido los mecanismos asociados a esta actividad, se ha sugerido que la actividad antiproliferativa de opioides pudiera ser dependiente de la vía de las caspasas (Yoshida y cols, 2000), modificación de elementos del citoesqueleto celular (Sueoka y cols, 1998), e incluso la generación de intermediarios reactivos del oxígeno (Panagiotou y cols, 1999).

También se ha sugerido que la actividad antiproliferativa de opioides pudiera no ser mediada por su unión a receptores opioides, sino por su interacción con otros sistemas receptores de membrana de las células, en particular el sistema somatostatinérgico ( Hatzoglou y cols, 1995 a, y c).



---

**Cuadro 6. Receptores opioides en tumores humanos.**

---

<b>Tipo celular u origen del tumor</b>	<b>Receptor</b>	<b>Referencia</b>
Astrocitoma	$\kappa$	Thomas y cols, 1990
Glioblastoma	$\kappa$	Thomas y cols, 1990
Mama	$\delta, \kappa, \mu$	Kampa y cols, 1996; Maneckjee y cols, 1990.
Colon	$\delta$	Singh y cols, 1996
Endometrio	$\delta, \kappa$	Hatzoglou y cols, 1995b
Adenocarcinoma gástrico	$\delta$	Ueki y cols, 1995
Pulmón	$\delta, \kappa, \mu$	Campa y cols, 1996, Maneckjee y cols, 1990b
Neuroblastoma	$\delta$	Campa y cols, 1996, Maneckjee y cols, 1990b

---

---

## Actividad Antitumoral de opioides

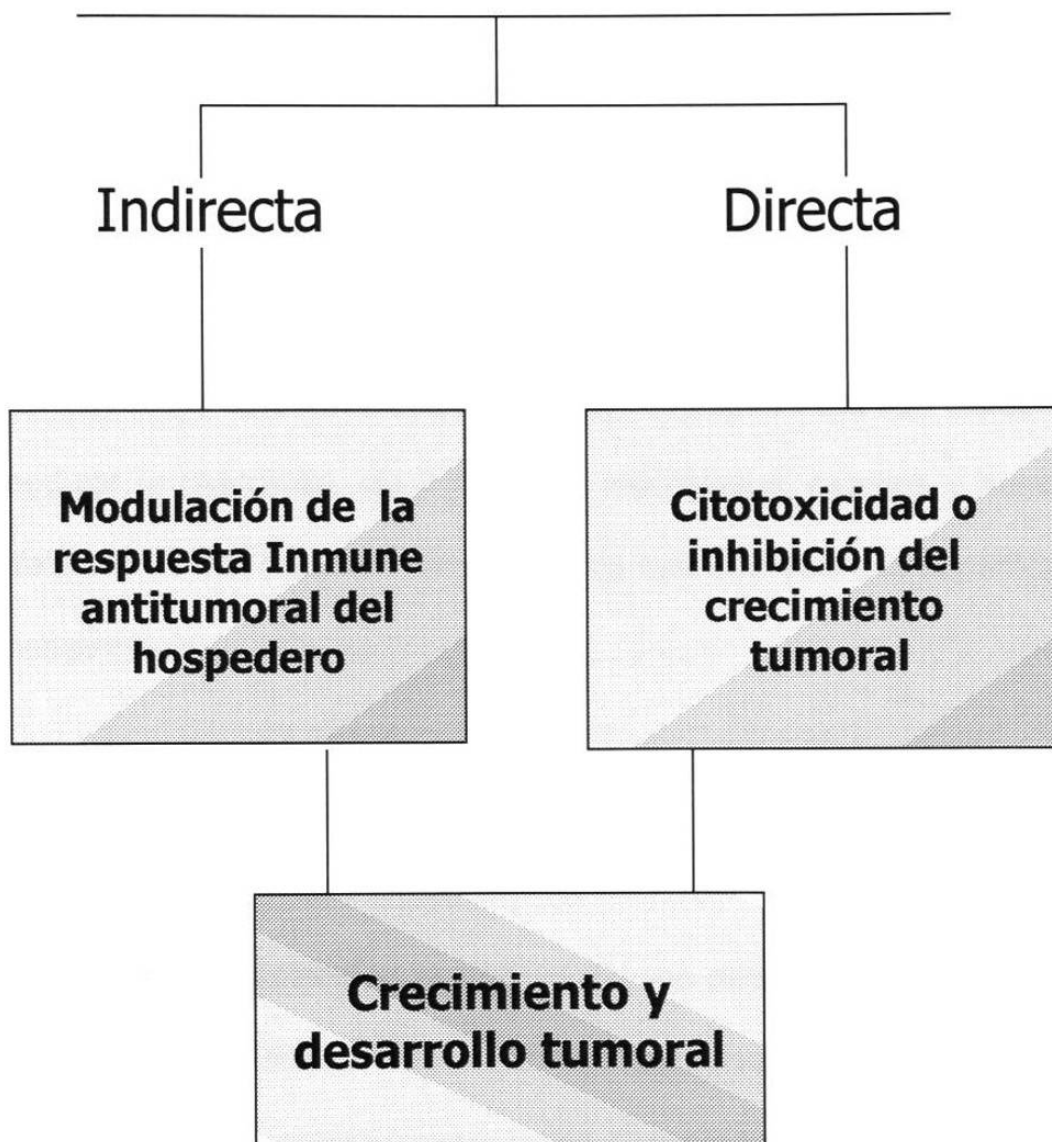


Figura 14. Mecanismos propuestos para la actividad antitumoral de opioides.

### 3. HIPÓTESIS

- a) Los agonistas opioides no peptídicos del tipo *delta* y *mu* son capaces de modular la respuesta de linfocitos y macrófagos, murinos y humanos mediante su asociación a receptores de opioides sobre la superficie de dichas células.
  
- b) Los agonistas opioides no peptídicos del tipo *delta* y *mu* son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de líneas celulares mieloides, linfoides y fibroblastoides mediante su asociación a receptores de opioides sobre la superficie de dichas células.