

Les molècules que modulen el dolor. Analgèsia i drogodependència, vint-i-cinc anys després del descobriment de les encefalines

Gregori València*, Gemma Arsequell* i Gemma Espuña*, Raquel Emilia Rodríguez**

*Unitat de Química de Glicoconjugats, Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals de Barcelona Josep Pascual Vila, CSIC, gvpqbp@iiqab.csic.es

**Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Medicina, Universitat de Salamanca, requel@mimi.gugu.usal.es

La sensació de dolor és una de les experiències comunes a tot ésser humà. Entre els estímuls dolorosos, n'hi ha que estan adreçats a mantenir la integritat del cos advertint la presència d'agressions externes, però és sovint desitjable poder-los controlar, especialment quan són de naturalesa crònica. S'ha demostrat que el control del dolor no és una tasca fàcil, perquè, malgrat el gran esforç investigador fet en els darrers cent anys per tal de trobar noves substàncies analgèsiques, el millor remei continua essent avui la morfina. Tanmateix les expectatives derivades del descobriment dels opiacis endògens, les encefalines, no han conduït tampoc al desenvolupament d'un analgèsic ideal lliure de problemes greus com la tolerància i l'addicció.

The sensation of pain is a common human experience. Although pain stimuli also serve as a warning system against external body aggressions, it is always desirable to control them, especially when they are chronic. During the past century, a great deal of effort was devoted to finding new substances to alleviate pain. However, this proved to be a difficult task and, to date, morphine, is the best remedy. Moreover, the expectations raised from the discovery of the endogenous opioids, the enkephalins, have not been fulfilled and the ideal analgesic lacking tolerance and addictive effects is still eagerly awaited.

És probable que els opiacis siguin uns dels primers fàrmacs utilitzats per l'home, tot i que es fa difícil precisar una referència exacta sobre aquest fet. A la Xina i a Mesopotàmia, fa dos mil anys, ja es coneixien aquests agents terapèutics, i no és una exageració assegurar que s'han utilitzat en medicina al llarg dels darrers quatre mil anys. La primera evidència escrita sobre una aplicació amb finalitats curatives dels productes procedents del cascall s'atribueix a Teofrast al segle tercer aC. El que és

cert és que durant els segles de la nostra era, l'extracte de les càpsules verdes del cascall d'opi *Papaver somniferum* ha estat usat àmpliament com a sedant. Així, el *làudanum*, un dels preparats més arrelats de l'opi, va arribar a tenir tanta fama que era considerat un dels remeis indispensables de la medicina.

Al llarg de la història, l'opi ha tingut aplicacions no terapèutiques, que en algun moment han assolit fins i tot proporcions desmesurades, com a la Xina el 1644, quan l'emperador Tsung Chen va prohibir l'ús del tabac. A partir d'aquest moment, la majoria dels fumadors xinesos van substituir el tabac per l'opi. Amb aquest canvi, a finals d'aquell segle, l'ús de l'opi va estendre's tant que més d'un quart de la població xinesa consumia opi. Aquesta enorme demanda va fer que l'opi hagués d'ésser importat de països veïns i generés un negoci controlat per la companyia British East India, entre d'altres, que va arribar a ésser tan lucratiu que els anglesos van desencadenar la Guerra de l'Opi (1839-1842) davant la decisió de les autoritats xineses d'acabar d'arrel amb aquest comerç. Després de la derrota de la Xina, els anglesos s'annexionaren Hong Kong, van ésser indemnitzats pels xinesos i la importació de l'opi es va renovar encara amb més força.



FIGURA 1. El cascall (*Papaver somniferum*) és la planta de la qual s'extreu l'opi i la morfina.

La morfina, el primer fàrmac efectiu contra el dolor

Malgrat que les investigacions químiques sobre l'opi van començar a principis del segle XIX, el seu progrés ha estat extremament lent. Actualment sabem que l'opi conté una mescla complexa d'almenys vint-i-cinc alcaloides. La morfina, ano-

menada així en honor de Morfeu, el déu grec dels somnis, és l'alcaloide majoritari i, alhora, responsable de l'activitat analgèsica de l'opi.

La morfina va ésser aïllada per primera vegada de l'opi per Armand Séquin el 1804 i un any més tard ho fou pel farmacèutic Friedrich Wilhelm Adam Sertürner, que en va establir la potència narcòtica en administrar-la a un gos. Aquests treballs de Sertürner van ésser ignorats fins a la seva publicació posterior el 1917.

L'ús de la morfina en la teràpia del dolor no va ésser immediat, sinó que va haver d'esperar fins al 1827, en què Heinrich Emanuel Merck va decidir produir aquest i altres alcaloides a gran escala, iniciant així les primeres activitats de la companyia quimicofarmacèutica E. Merck. També el 1833, els químics de la Macfarlane & Co. (avui Macfarlane-Smith) van ésser capaços d'aïllar i purificar la morfina a escala industrial. Tot i aquests esforços de la indústria química, el tractament efectiu del dolor mitjançant l'administració de morfina no es va produir fins al 1853 amb el descobriment de la xeringa hipodèrmica per Alexander Wood.

L'administració de morfina provoca efectes molt diversos: analgèsia, mareig, canvi de caràcter, depressió respiratòria, reducció de la motilitat gastrointestinal, nàusees, vòmits i alteracions dels sistemes endocrí i nerviós autonòmic, entre d'altres. El seu ús continuat indueix també els fenòmens de tolerància i dependència o addicció, que van ésser coneguts tan bon punt l'ús de la morfina es va fer extensiu arran de les guerres civils americana i francoprussiana. Molts combatents ferits van tornar a les seves llars amb addicció a la morfina.

Addicció i tolerància: dos problemes greus dels opiacis

Malgrat aquests precedents, el potencial addictiu de la morfina i els seus congèneres no es va posar de manifest en tota la seva extensió fins al descobriment de l'heroïna el 1875. Sense gaires coneixements sobre l'estructura química de la morfina, l'heroïna (diacetilmorfina o diamorfina) va ésser obtinguda per simple acetilació de la morfina. Bayer va ésser la primera companyia que la va comercialitzar el 1898, just dos anys després de l'aspirina, i la va promocionar sobre la base d'una millor activitat antitussígena que la codeïna. La professió mèdica va trigar més de vint-i-cinc anys a adonar-se del gran poder addictiu d'aquest derivat, a causa, principalment, de l'actitud mental dels pacients de l'època, que la prenien per alleujar la tos i no buscaven ni esperaven sentir els efectes derivats de la seva acció sobre el sistema nerviós central.

Després de la seva comercialització, els coneixements de l'estructura i les propietats de la morfina van anar augmentant progressivament. Així, el 1923 Sir Robert Robinson proposava per primera vegada l'estructura de la morfina tal com avui la coneixem. De tota manera, la lentitud del progrés científic del començament del segle xx va fer que la confirmació definitiva de l'estructura proposada per Robinson no es produís fins vint-i-set anys més tard, el 1952, mitjançant la primera síntesi química total de la morfina efectuada per Gates i Tschudi. En aquest sentit, també es pot constatar que es va haver d'esperar cent seixanta-quatre anys fins que el 1968 se'n donés a conèixer l'estructura cristal·logràfica.

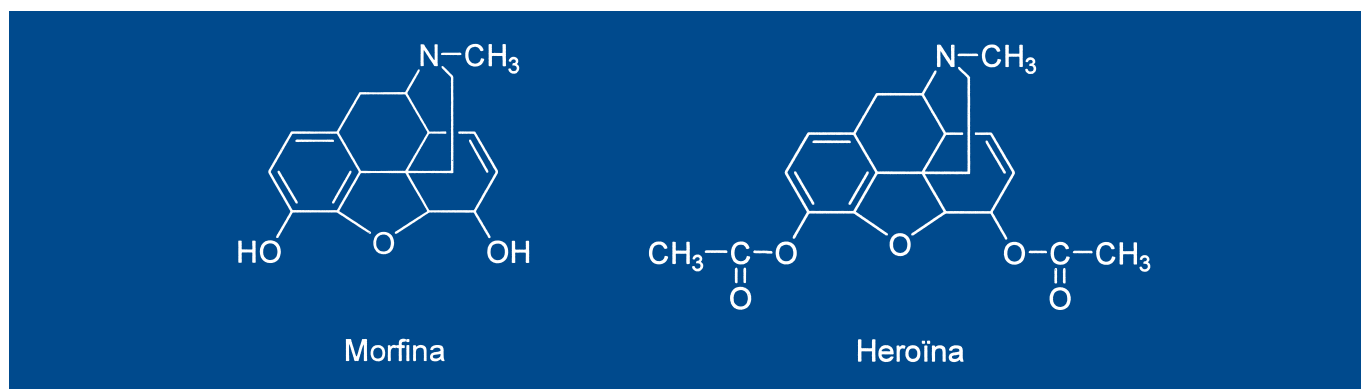


FIGURA 2. Estructures químiques de la morfina i l'heroïna. L'heroïna és el producte obtingut per acetilació de la morfina.

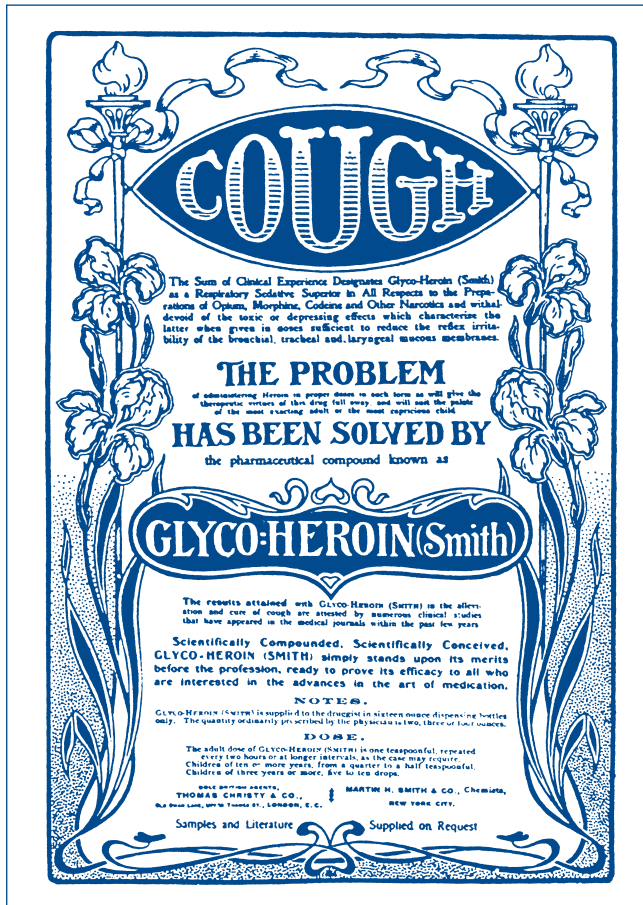


FIGURA 3. Anunci de l'heroïna com a remei efectiu contra la tos.

Arran d'aquests progressos, l'interès de la indústria farmacèutica per desenvolupar anàlegs més potents i que no produïssin els efectes addictius de la morfina va fer posar en marxa una sèrie de programes de síntesi i estudi farmacològic de nous anàlegs inspirats en l'estructura de la morfina. Aquest esforç va conduir a molècules simples com el dextrometorfan, la meperidina i la metadona. Algunes d'elles són tan útils com la meperidina, particularment efectiva per alleujar els dolors del part sense causar efectes cardiovasculars en el nounat.

A finals dels anys seixanta s'havien sintetitzat molts compostos, alguns dels quals molt potents, com l'etorfina, que actua en els éssers humans en dosis tan baixes com 0,1 mg. Amb aquest ampli ventall de substàncies s'ha aconseguit millorar el perfil terapèutic de la morfina, però en cap cas no s'ha obtingut un compost totalment lliure d'efectes secundaris. Per tant, són ben pocs els analgèsics opiacis que han aconseguit arribar a l'ús clínic i, encara a l'any 2000, la morfina és l'analgèsic per excel·lència per al tractament del dolor crònic.

Diversitat i dificultat dels receptors opiacis

Aquests desenvolupaments farmacèutics s'han dut a terme, en la major part dels casos, sense el coneixement del mode d'acció de la morfina, que avui encara no és clar del tot. La ciència actual accepta, sense discussió, que la morfina alleuja el dolor actuant a nivell del sistema nerviós central sobre uns receptors específics anomenats receptors opiacis, que són de tres tipus principals: μ , δ i κ . Es tracta de proteïnes complexes situades a les membranes de les cèl·lules del sistema nerviós que encara avui dia no ha estat possible aïllar, purificar i caracteritzar químicament. L'existència de receptors endògens per a la morfina va ésser postulada per analogia amb el que s'esdevé amb altres substàncies amb activitat farmacològica que també tenen receptors específics. La primera evidència experimental a favor d'aquesta hipòtesi, la va aportar Avram Goldstein en un article publicat el 1971. Aquests nous coneixements van fer que a mitjan dècada dels setanta el ritme de la investigació en el camp del dolor augmentés vertiginosament.

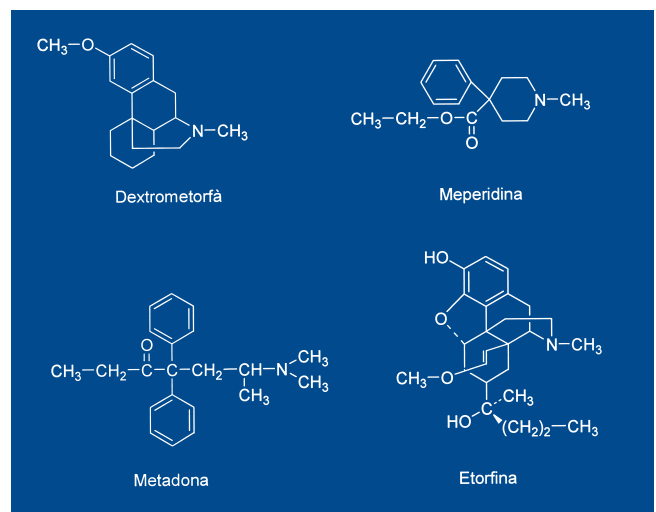


FIGURA 4. Algunes estructures químiques de substàncies amb afinitat pels receptors opiacis que produeixen efectes analgèsics.

Lluny d'explicar completament els mecanismes que desencadenen i atenuen el dolor, l'evidència experimental de l'existència de receptors opiacis va plantejar nous interrogants. Com pot ser que una substància produïda per les plantes tingui receptors específics en el cervell humà? La resposta lògica, i que ara sembla evident, és que existirien substàncies

generades en el propi organisme que tindrien com a funció interaccionar amb els receptors opiàcics i alleujar el dolor.

El descobriment de les encefalines, una cursa contra rellotge

La recerca d'aquestes substàncies naturals endògenes no va ésser fàcil i va tenir ocupat més d'un laboratori d'investigació durant uns quants anys. D'alguna manera, aquest episodi històric és un dels primers exemples de rivalitat científica i d'investigació contra rellotge tan habituals en la ciència contemporània. Els contendents principals en aquesta cursa foren tres grups d'investigació: dos d'americans, el de Solomon Snyder de la Johns Hopkins Medical School de Baltimore, sostingut per la multinacional suïssa Sandoz (actualment Novartis),

i el grup d'Avram Goldstein, primer a la Universitat de Stanford a Palo Alto i després a la Addiction Research Foundation, i el de Hans Kosterlitz i John Hughes de la Unit for the Study of Addictive Drugs a Aberdeen, Escòcia.

Contra tota previsió, el guanyador no va ésser cap dels dos grups d'investigació d'elit americans, sinó el modest laboratori de la petita població escocesa. Les claus de l'èxit estan en la combinació de tenacitat i treball dur aportats pel jove investigador John Hughes i per l'oportunitat d'atacar el problema de forma interdisciplinària i aplicar tècniques avançades d'anàlisi química i espectroscòpia.

Les claus de l'èxit: instrumentació, experiència, interdisciplinarietat, constància i... sort?

No és habitual trobar en un mateixa persona la predisposició i l'aptitud per processar quantitats tan grans de cervell de porc i, alhora, engalzar i posar a punt, de manera artesanal, un instrument delicat per poder dur a terme la cromatografia líquida d'alta resolució, una tècnica que encara estava en un estadi experimental a la meitat de la dècada del 1970. Coneguda en anglès com a High Performance Liquid Chromatography (HPLC), aquesta tècnica era llavors tan prohibitiva per a economies com la del laboratori de Hughes i Kosterlitz, que també se la coneixia irònicament com a «High Price» Liquid Chromatography. Així, doncs, si John Hughes va voler aplicar a la purificació dels seus extractes de cervell de porc la millor tecnologia analítica del moment, no va tenir cap més solució que construir ell mateix l'equip necessari.

La història d'aquest descobriment no hauria estat la mateixa sense la intervenció de Howard Morris, de l'Imperial College de Londres, que es va produir gràcies a una trobada casual amb Hughes. El problema no era trivial, però l'accés a la millor instrumentació del moment i l'experiència en espectrometria de masses de Morris els van permetre arribar abans que els seus competidors americans a elucidar l'estructura de dues substàncies molt semblants en les fraccions de HPLC obtingudes per Hughes. Aquestes van resultar ésser dos pentapeptíds que només es diferenciaven en el cinquè aminoàcid i que van rebre el nom de Leu-encefalina i Met-encefalina. El terme *en-*

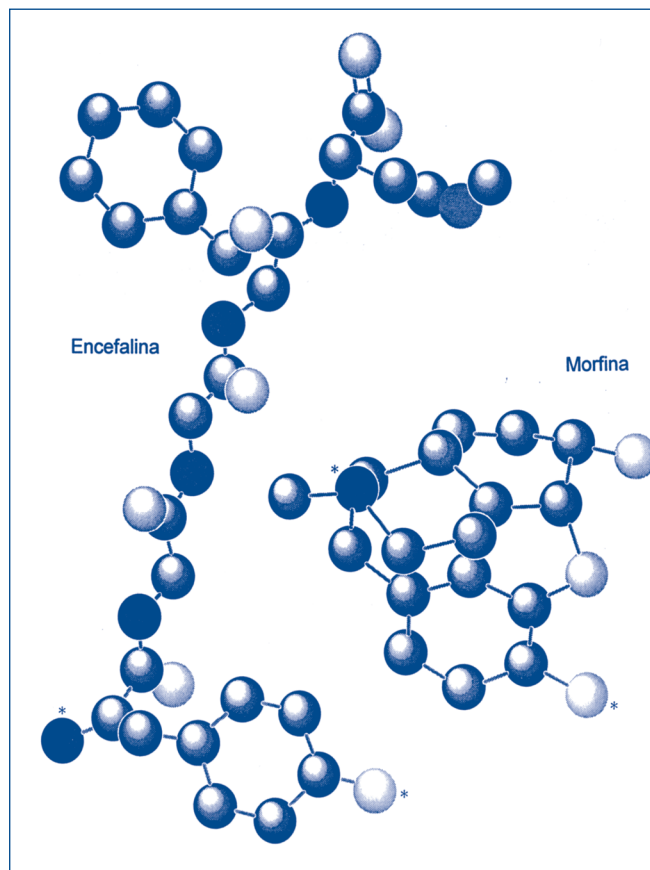


FIGURA 5. Comparació en un model de boles de les estructures de la Met-encefalina i la morfina. És probable que els àtoms assenyalats amb (*) interaccionin amb el receptor opiàcic.

cefalina prové del grec i significa «en el cap»; per tant, fa referència al lloc d'origen en l'organisme d'aquestes substàncies sense al·ludir a cap de les seves propietats.

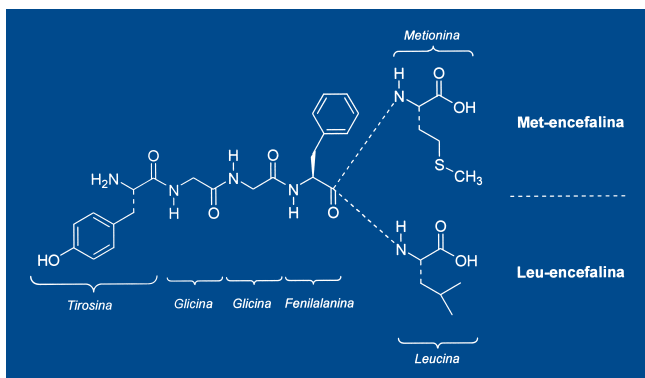


FIGURA 6. Estructura química dels pentapeptids leucina i metionina–encefalina, les primeres substàncies endògenes descobertes amb propietats analgèsiques.

El de les encefalines va ésser el primer descobriment d'unes substàncies naturals que exerceixen en l'organisme humà una acció semblant a la de la morfina. El seu anunci es va fer mitjançant un article a la revista *Nature* titulat: «Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity», dels autors John Hughes, Hans Kosterlitz, Linda Fothergill, Barry Morgan, Howard Morris i Terry Smith. El manuscrit, que va arribar a les oficines de *Nature* el 28



FIGURA 7. Els descobridors de les encefalines: Hans Kosterlitz i el seu jove col·laborador John Hughes.

d'octubre, va ésser inclòs en el número del 18 de desembre de 1975. Aquell mateix dia el diari *The Times* va publicar un article de tres columnes a la seva pàgina editorial titulat: «Pharmacology: Brain drug like morphine».

L'aniversari d'unes expectatives que no s'han acomplert

Aquests esdeveniments històrics d'un descobriment crucial en el camp del dolor han estat el punt de partida de nous coneixements sobre les substàncies endògenes relacionades amb els mecanismes que produeixen i modulen la sensació dolorosa.

La naturalesa endògena d'aquestes noves substàncies va fer pensar que podrien estar lliures dels efectes tòxics típics dels opiacis. Dissortadament, ben aviat es va poder comprovar que l'administració exògena d'aquests pèptids produeix també els efectes secundaris típics dels derivats de la morfina. La seva naturalesa peptídica també ha constituït un gran inconvenient a l'hora de la seva aplicació terapèutica, perquè són molècules làbils als enzims proteolítics i per això tenen una vida mitjana molt curta. S'han fet molts esforços sintètics per millorar aquestes i altres propietats, ja que, pel fet intrínsec de ser pèptids, el seu preu de cost és més alt que el dels opiacis naturals o semisintètics que s'utilitzen en la pràctica diària de la medicina, i, per tant, cap d'ells no ha arribat al mercat farmacèutic.

Malgrat que l'adveniment de les encefalines no ha comportat el desenvolupament de nous fàrmacs per al tractament del dolor, els vint-i-cinc anys que han passat des de la seva troballa han permès avenços científics importants. En aquest sentit, és destacable el descobriment d'almenys uns altres cinquanta pèptids endògens relacionats amb el dolor que contenen entre 5 i 33 aminoàcids cadascun. Alguns exemples d'aquests pèptids són les endomorfines 1 i 2, descobertes per Zadina (*Nature*, núm. 386 [1997], p. 449), i la nocistatina, descoberta per Okuda (*Nature*, núm. 392 [1998], p. 286). Es creu que aquesta família de substàncies són neurotransmissors o neurohormones cerebrals que actuen com a moduladors naturals del dolor i que ahora fan moltes altres funcions en el sistema nerviós central i en la seva perifèria.

Tots aquests pèptids es generen a partir de tres proteïnes precursoras inactives: proencefalina, prodinorfina i proopiome-lanocortina. Una característica comuna tant dels precursors com dels pèptids corresponents és que en la seva estructura es pot identificar l'esquelet de la Met- i la Leu-encefalina. Això posa de manifest la importància de l'estructura d'aquests pentapèptids a l'hora d'induir activitat analgèsica.

PÈPTIDS OPIACIS ENDÒGENS I SINTÈTICS	
<i>Selecció de pèptids opiacis endògens</i>	
[Leu ⁵]encefalina	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu
[Met ⁵]encefalina	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met
Dinorfina A	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln
Dinorfina B	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Gln-Phe-Lys-Val-Val-Thr
α-Neoeendorfina	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Pro-Lys
β-Neoeendorfina	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Pro
β _h -Endorfina	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Gly-Glu
<i>Selecció de pèptids opiacis sintètics</i>	
DAMGO	[D-Ala ² , MePhe ⁴ , Gly(ol) ⁵]encefalina
DPDPE	[D-Pen ² , D-Pen ⁵]encefalina
DSLET	[D-Pen ² , D-Leu ⁵]encefalina-Thr ⁶
DADL	[D-Ala ² , N-MePhe ⁴ , Met(O) ⁵ -ol]encefalina
CTOP	D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH ₂
FK-33824	[D-Ala ² , N-MePhe ⁴ , Met(O) ⁵ -ol]encefalina
[D-Ala ²]Deltorfina I	Tyr-D-Ala Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH ₂
[D-Ala ² , Glu ²]Deltorfina (Deltorfina II)	Tyr-D-Ala Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH ₂
Morfeceptina	Tyr- Pro-Phe-Pro-NH ₂
PL-017	Tyr- Pro-MePhe-D-Pro-NH ₂
DALCE	[D-Ala ² , Leu ⁵ , Cys ⁶]encefalina

FIGURA 8. Alguns exemples de seqüències de pèptids opiacis naturals i sintètics.

Contribucions de la biologia molecular

Malgrat els innombrables però infructuosos intents d'aïllament i purificació dels receptors opiacis, aquest quart de segle d'esforç investigador constant en el camp dels opiacis també ha permès la caracterització de l'estructura del receptor opiaci i dels diferents subtipus (μ , δ i κ) mitjançant les tècniques modernes de clonació emprades en biologia molecular (Evans i col·l., *Science*, núm. 258 [1952-1955, 1992]; Keiffer i col·l., *Cell. Mol. Neurobiol.*, núm. 15 [1995], p. 615-635). Una altra fita assolida recentment ha estat la caracterització d'un nou tipus de receptor opiaci, l'ORL1, i l'aïllament del seu lligand endogen, el pèptid orfanina o nociceptina (Pan i col·l., *Mol.*

Pharmacol., núm. 47 [1995], p. 1180-1186; Meunier i col·l., *Nature*, núm. 377 [1995], p. 532-535; Reinscheid i col·l., *Science*, núm. 270 [1995], p. 792-794). Aquest pèptid, de característiques químiques semblants a les de la dinorfina A, està format per una seqüència de disset aminoàcids. Alguns investigadors creuen que tenen dades que apunten cap al fet que el nou receptor ORL1 és un anàleg amb un alt grau d'homologia del receptor κ .

Fa cinc anys, un equip multidisciplinari d'investigadors francesos va donar a conèixer nous aspectes del mode d'acció de la morfina. Aquest nou episodi es recull en el número 31, d'octubre de 1996, de la revista *Nature*. El treball, signat per Matthes i col·laboradors, demostra que el receptor μ és el principal lloc d'acció de la morfina, qüestionant el fet ben establert fins ara que la morfina pugui actuar sobre els tres subtipus de receptors opiacis. Aquests investigadors han aconseguit produir una nova espècie de ratolins (*knock-out mice*) als quals els falta el receptor opiaci μ , mitjançant l'ús de tècniques de supressió de gens en cèl·lules embrionàries. Aquests ratolins no presenten cap dels efectes normals davant l'agent analgèsic, euforitzant i addictiu per excel·lència que és la morfina. Pel que fa a la resta, aquests animals mostren patrons d'activitat, mortalitat, ritme circadià, etc. normals. Per això, en certa mesura, aquest descobriment ve a confirmar la sospita que el sistema opiaci està en repòs en estat de normalitat i només s'activa en circumstàncies ambientals o durant períodes determinats de desenvolupament.

L'analgèsic ideal: una quimera llunyana

Amb aquests exemples es pretén donar una idea de la gran versatilitat i potència de les tècniques modernes de l'enginyeria genètica quan s'apliquen a l'estudi de problemes biològics pendents de resolució com el dels mecanismes del dolor. Possiblement, són aquestes tècniques associades als nous coneixements de modelització molecular i estudis estructurals de proteïnes receptores els que portaran al disseny racional del que hem anomenat analgèsic ideal que no presenta els efectes secundaris dels opiacis. Ara bé, sense perdre la confiança en aquestes noves expectatives, hem de concloure, però, que, vint-i-cinc anys després del descobriment dels opiacis endògens, la crua realitat és que malgrat l'enorme esforç químic i

farmacològic dels laboratoris que treballem en el camp del dolor i la drogodependència, no hem estat capaços de trobar una substància sintètica que no produeixi efectes secundaris de tolerància i dependència. Així, doncs, per una banda, la modulació del dolor és encara un tema pendent de solució, i, per una altra banda, la drogodependència és un problema social tan greu com sempre.

Bibliografia

GOLDBERG, J. *Anatomy of a scientific discovery*. Londres: Bantam Books, 1989.

MANN, J. *Murder, magic and medicine*. Nova York: Oxford University Press, 1994.

SNYDER, S. H. «Los receptores de los opiáceos y sustancias opiáceas endógenas». A: *El cerebro*. Barcelona: Labor, 1980. (Libros de Investigación y Ciencia).

— *Drogas y cerebro*, Prensa Científica, Barcelona (1992).

Autors

G. Valencia, G. Arsequell i G. Espuña són doctors en química, especialistes en síntesi de gliconjugats i pèptids. La línia de recerca a què fa referència l'article es va iniciar l'any 1975 i s'ha continuat amb intermitències derivades de la manca de recursos.

R. E. Rodríguez és doctora en química i professora titular de bioquímica. Gràcies a la seva col·laboració s'ha pogut determinar l'activitat biològica in vivo de les noves molècules en models animals. La seva activitat professional està dirigida a la caracterització farmacològica i bioquímica dels receptors opiàtics.

Un dels darrers resultats fruit d'aquesta col·laboració es recull en una patent internacional que reivindica una família de glicòsids derivats de la morfina. Un d'ells és dues-centes vegades més potent que la mateixa morfina i presenta efectes secundaris menors.