

MECANISMOS DE TOLERANCIA ANALGÉSICA A LOS OPIOIDES

Gloria P. Hernández-Delgadillo*, Silvia L. Cruz**

SUMMARY

Opioid agonists mediate their analgesic effects by interacting with Gi/o protein-coupled receptors. Acute opioid administration produces: a) an inhibition of the adenylate cyclase (AC) pathway; b) an activation of G-coupled inwardly rectifying potassium channels (GIRKs); and c) a blockade of voltage-dependent calcium channels. All these effects result in cell hyperpolarization and neurodepression. In addition, opioids can stimulate the hydrolysis of phosphatidylinositol by activation of phospholipase C with the resulting calcium release from intracellular storages. However, this is a short-lasting excitatory effect.

The development of analgesic tolerance to opioids after repeated administration is an undesirable side effect in clinical practice that limits their use for prolonged treatments. This paper reviews the main mechanisms that have been proposed to play a role in the development of opioid-induced analgesic tolerance, as well as the drugs that have some efficacy in reducing or preventing it.

Tolerance is a complex process involving several neurotransmitter systems and neural adaptations occurring at different levels. It does not seem to be due to metabolic changes because concentrations of the main morphine metabolites, morphine-3-glucuronide (M3G) and morphine-6-glucuronide (M6G), are not significantly changed in tolerant patients.

There is sound evidence suggesting that the main changes underlying tolerance development are pharmacodynamic in nature. These changes occur at: a) the receptor level; b) the second messenger level; and c) other neurotransmitter systems. At the receptor level, three different processes have been described: 1. phosphorylation-mediated desensitization; 2. β -arrestin-dependent endocytosis; and 3. receptor down regulation. These processes can affect opioid receptors themselves (homologous changes) and/or receptors to other neurotransmitters (heterologous changes).

Different researchers have pointed out that there are some inconsistencies between the level of agonist-induced receptor endocytosis and the degree of analgesic tolerance produced by opioid agonists. For example, morphine does not promote efficient receptor internalization, but it produces a strong intracellular signal and, after repeated administrations, a high degree of tolerance. The opposite occurs with other opioids such as DAMGO, methadone and some δ -agonists; i.e., they produce low tolerance, but a high degree of receptor endocytosis. This fact has led to the development of a new theory which proposes that opioid-induced compensatory intracellular changes play an important role in tolerance development.

These compensatory changes are more difficult to reverse than changes occurring at the receptor level, because receptor sequestration does not necessarily commit receptors to degradation, but lead, at least in part, to dephosphorylation and receptor recycling to the cell surface. Based on this, Whistler and coworkers proposed the "RAVE" (*Relative Agonist signaling Versus Endocytosis*) theory, stating that strong internalization would limit tolerance while sustained signaling would favor it.

Probably the best studied change in intracellular signaling produced by chronic opioid administration is cAMP up-regulation. Acutely, this pathway is inhibited by opioids, but chronic exposure leads to a loss of inhibition of adenylate cyclase. This is due, in part, to a loss of the ability of the agonist-occupied receptor to activate Gi/o proteins and to an increased expression of certain types of adenylate cyclase, protein kinase A (PKA) and cAMP response element binding protein (CREB). Persistent opioid receptor activation also induces an increase in calcium channel activity, a decrease in the activation of G-coupled inwardly rectifying potassium channels (GIRKs), and a stimulation of the phospholipids signal transduction pathways. All these mechanisms have also been proposed to play a role in tolerance development.

Several enzymes can be activated as a result of chronic opioid administration. Among them, phospholipase A2 (PLA2), cyclooxygenase (COX), in particular the COX-2 isoform, and nitric oxide synthase (NOS) are particularly relevant because their activation leads to an increase in prostaglandins and nitric oxide synthesis. Besides, repeated opioid agonist exposure induces an up-regulation of the cAMP-dependent protein kinase (PKA), the calcium-dependent protein kinase (PKC), the calcium calmodulin II dependent kinase and those kinases activated by mitogens (MAPKs). Phosphorylation by these kinases alters the functioning of many different target proteins, including NMDA receptors. When these glutamatergic receptors are phosphorylated, the Mg^{2+} block is removed and sodium and calcium ions can enter the cell. There is sound evidence indicating that NMDA receptor activation plays an important role in opioid analgesic tolerance because NMDA receptor antagonists prevent and/or delay its development in humans and animals. There is agreement in considering opioid analgesic tolerance as a complex phenomenon, but those changes resulting in an intracellular calcium increase seem to play a particularly relevant role.

Since activation of certain physiological systems may antagonize some acute opioid effects, several investigators have proposed that, as a consequence of chronic opioid administration,

*Facultad de Medicina Humana, Universidad Autónoma de Zacatecas.

**Departamento de Farmacobiología, Cinvestav, IPN.

Correspondencia: Silvia L. Cruz. Calzada de los Tenorios 235, Col. Granjas Coapa, 14330, México DF. Tel: 5061-2853; Fax: 5061-2863. Email: cruz_farma@yahoo.com

Recibido primera versión: 9 de diciembre de 2004; segunda versión: 10 de marzo de 2005. Aceptado: 14 de abril de 2005.

endogenous antiopioid peptides are released to maintain the homeostasis. Among them, the best studied peptides are the Tyr-MIF-1 family of peptides, cholecystokinin (CCK), neuropeptide FF (NPFF) and orphanin FQ/nociceptin. Under physiological conditions these systems modulate opioid peptides, but the balance can be lost as a result of chronic opioid exposure.

It has also been proposed that chronic opioid administration results in the activation of facilitatory pain descending pathways and that several neurotransmitter systems other than the adrenergic, serotonergic and opioidergic are affected by repeated morphine administration. Their relative impact in analgesic tolerance depends upon the species, the drug and the schedule of opioid administration.

In preclinical studies, several drugs capable of preventing, decreasing or delaying analgesic tolerance when co-administered with opioids, have been identified. Based on this, several pharmacological strategies have been proposed to reduce tolerance. The following can be mentioned: a) administration of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists; b) co-administration of therapeutic opioid agonist doses with very low opioid antagonist doses; c) use of PKC inhibitors and COX inhibitors (in particular those with higher affinity for COX₂, isoform); and d) co-administration of μ agonists with other agonists to induce receptor endocytosis thus preventing the induction of more long-lasting intracellular signaling changes. Among the physiological approaches, the proper dosification and administration schedule of opioids are crucial factors to prevent an artificial need of dose escalation.

Key words: Tolerance, analgesia, opioids, mechanisms, review.

RESUMEN

Los agonistas opioides producen analgesia a través de su interacción con receptores específicos acoplados a proteínas Gi/o. Agudamente, inhiben la vía de la adenilato ciclase, activan canales de potasio y bloquean canales de calcio, dando como resultado una hiperpolarización celular. Los opioides también activan la vía de la fosfolipasa C, pero éste es un efecto excitatorio de corta duración. La tolerancia a sus efectos analgésicos se presenta después de administraciones repetidas y es un efecto indeseable que limita su utilidad en la práctica clínica. En esta revisión, se presentan los mecanismos propuestos para explicar este fenómeno y los fármacos usados para atenuarlo, prevenirlo y/o revertirlo.

La tolerancia involucra la participación de diversos sistemas de neurotransmisión y adaptaciones a diferentes niveles subcelulares. No parece tratarse de un fenómeno farmacocinético, ya que en los pacientes que han recibido tratamientos crónicos y agudos con opioides no se observan diferencias significativas en sus metabolitos. La administración crónica de opioides produce cambios en el nivel de los receptores, de segundos mensajeros y de otros sistemas de neurotransmisión. En lo que se refiere al receptor, se han descrito tres procesos: a) desensibilización por fosforilación; b) internalización o endocitosis; y c) degradación. Estos procesos pueden darse en los propios receptores a opioides (cambios homólogos) o en receptores a otros neurotransmisores (cambios heterólogos). Entre las adaptaciones que se presentan en la señalización intracelular, se han descrito las siguientes: una regulación a la alta del sistema de la adenilato ciclase, un incremento en la activación de los canales de calcio, una pérdida de la

activación de los canales rectificadores entrantes de potasio y un aumento en la hidrólisis de los lípidos de inositol. Estos efectos son opuestos a los producidos por la administración aguda de agonistas opioides y como consecuencia activan varias enzimas, entre las que destacan la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA), la proteína cinasa dependiente de calcio (PKC), la ciclooxigenasa (COX), en particular de la isoforma COX-2, y la sintasa del óxido nítrico (SON).

Dado que la activación de algunos sistemas fisiológicos antagoniza varios efectos agudos de los opioides, se ha propuesto que durante el desarrollo de tolerancia analgésica se produce un incremento de péptidos antiopioides, como la colecistocinina (CCK), el neuropéptido FF y la orfanina FQ. De la misma manera, hay evidencias muy sólidas que indican que la activación de los receptores NMDA cumple un papel importante en la tolerancia analgésica a los opioides porque los antagonistas de este tipo de receptor previenen y/o revierten este fenómeno. También se ha propuesto que la administración crónica de opioides da como resultado la activación de los sistemas descendentes facilitadores del dolor. Si bien se acepta que la tolerancia es un fenómeno complejo que involucra diversas variables, parece claro que los procesos relacionados con el incremento del calcio en el nivel intracelular desempeñan un papel determinante.

En estudios preclínicos se han descrito varios fármacos que previenen, retardan o disminuyen el desarrollo de tolerancia analgésica cuando se administran junto con los opioides. Entre las estrategias farmacológicas propuestas para disminuir la tolerancia se encuentran las siguientes: a) el uso de antagonistas competitivos y no competitivos de los receptores NMDA; b) la coadministración de dosis terapéuticas de agonistas opioides con dosis muy bajas de antagonistas opioides; c) el uso de inhibidores enzimáticos, en particular de COX-2; y d) la co-administración de agonistas μ con agonistas δ para favorecer la endocitosis de los receptores opioides y evitar así que se induzcan los cambios de señalización intracelular producidos cuando sólo se administra morfina. Entre las estrategias fisiológicas se encuentran el espaciamiento correcto entre dosis y el mantenimiento de niveles terapéuticos para evitar la presentación de picos y valles que dificultan el control del dolor y promuevan un incremento no justificado de las dosis de opioides.

Palabras clave: Tolerancia, analgesia, opioides, mecanismos, revisión.

GENERALIDADES

La tolerancia se define como la disminución de los efectos de un compuesto administrado repetidamente. Para los opioides, la tolerancia se presenta con diferente intensidad y curso temporal sobre sus diversos blancos de acción. Así, en un tratamiento prolongado con morfina, inicialmente se desarrolla tolerancia a la sedación, la náusea y el vómito; tiempo después, a la depresión respiratoria y a la analgesia, y casi no se desarrolla para la miosis y la constipación (3, 30). El propósito de esta revisión es presentar algunos de los mecanismos propuestos para explicar el desarrollo de la tolerancia analgésica a los opioides y algunos de los

fármacos que pueden evitarla o disminuirla.

El dolor es una característica fundamental de los mecanismos fisiológicos que ayudan a proteger la integridad de un individuo; sin embargo, cuando es persistente puede resultar nocivo, por lo que su alivio debe ser una prioridad en la clínica (15). Los opioides son analgésicos potentes que se utilizan para dolores intensos y en casos de cáncer terminal. Producen analgesia por mecanismos múltiples, mediados en los niveles periférico, espinal y supraespinal. A pesar de su eficacia, el uso clínico de estos compuestos es limitado porque su administración prolongada puede producir tolerancia a sus efectos analgésicos, dependencia física y adicción (14).

EFFECTOS AGUDOS DE LOS OPIOIDES

Los opioides producen sus efectos a través de receptores específicos, de los cuales se han descrito tres tipos principales: los delta (δ), los kappa (κ) y los mu (μ). Se localizan en diferentes áreas cerebrales, en la médula espinal y en las terminales periféricas (10). De acuerdo con la Unión Internacional de Farmacología, estos receptores deben ser nombrados OP₁, OP₂ y OP₃, respectivamente, porque en ese orden fueron clonados los genes que codifican para su expresión (9). Existen numerosas evidencias farmacológicas que sugieren que hay subtipos dentro de cada categoría; sin embargo, hasta el momento sólo se han clonado tres receptores que los biólogos moleculares designan como MOR, DOR y KOR (51). La expresión de estos genes en diferentes células ha permitido estudiar sus procesos de unión, regulación y señalización.

En el nivel celular, la administración aguda de opioides produce: a) la inhibición de la vía de la adenilato ciclase (AC); b) la activación de los canales rectificadores entrantes de potasio sensibles al voltaje (GIRK: *G-coupled inwardly rectifying potassium channels*); y c) el bloqueo de canales de calcio dependientes de voltaje (figura 1). Estos efectos dan como resultado una hiperpolarización celular y una disminución de la tasa de disparos neuronales (12). Un efecto excitatorio agudo menos conocido de los opioides es la activación de la vía de la fosfolipasa C (PLC), que promueve la movilización de calcio de los depósitos intracelulares (figura 2). En general, este sistema se desensibiliza muy rápidamente, pero cobra importancia después de exposiciones prolongadas (49). Los cuatro efectos anteriormente descritos requieren un acoplamiento entre el receptor opioide y las proteínas dependientes de GTP (proteínas G) del tipo Gi/Go (51). Un dato interesante es que en presencia del gangliósido M1 (GM1), un glicolípido distribuido en

la membrana celular de las neuronas, algunos receptores opioides pueden acoplarse a una proteína Gs (estimuladora) (8, 16). Normalmente, los agonistas opioides se acoplan a proteínas Gi/o y el efecto resultante es inhibitorio.

En el nivel sistémico, la modulación del dolor se da por mecanismos inhibitorios y excitatorios en la médula espinal, que se encuentran bajo control segmental y supraespinal. Los opioides producen analgesia porque activan las vías inhibitorias descendentes, lo cual se traduce en una disminución de la transmisión de los estímulos nocivos hacia los centros supraespinales del SNC (31).

En general, se acepta que la tolerancia se desarrolla por dos procesos superpuestos. Por un lado, los efectos inhibitorios de los opioides se vuelven menos eficientes y, por otro, sus efectos excitatorios se vuelven más importantes, tanto en el nivel celular como sistémico (48, 49). Estos cambios se analizan en las siguientes secciones.

MECANISMOS PROPUESTOS DE TOLERANCIA ANALGÉSICA

1. En el nivel farmacocinético

La morfina se metaboliza en el hígado para producir dos metabolitos principales, la morfina-6-glucurónido (M6G) y la morfina-3-glucurónido (M3G). El primero es activo como analgésico mientras que el M3G antagoniza tanto el efecto de la morfina como el del M6G. Diversos estudios han señalado que la absorción, el metabolismo y la eliminación de la morfina no se modifican significativamente en individuos tolerantes (7, 35), por lo que se considera que la tolerancia analgésica es fundamentalmente un fenómeno farmacodinámico.

2. Cambios en el nivel de receptores

En general, los cambios en el nivel de receptores incluyen la desensibilización e internalización. Una vez internalizado, el receptor puede resensibilizarse y volver a la superficie (reciclaje) o degradarse en los lisosomas (regulación a la baja o *down-regulation*). En el primer caso, se restituye rápidamente la sensibilidad al agonista, mientras que en el segundo es necesario que haya síntesis *de novo* de receptores (11). De acuerdo con estudios recientes, el destino de los receptores internalizados depende de que se dé o no una interacción con una proteína específica, la GASP (*G protein coupled receptor associated sorting protein*), que promueve la degradación del receptor (55).

Se ha sugerido que la tolerancia analgésica podría estar mediada por una disminución en la cantidad y/o

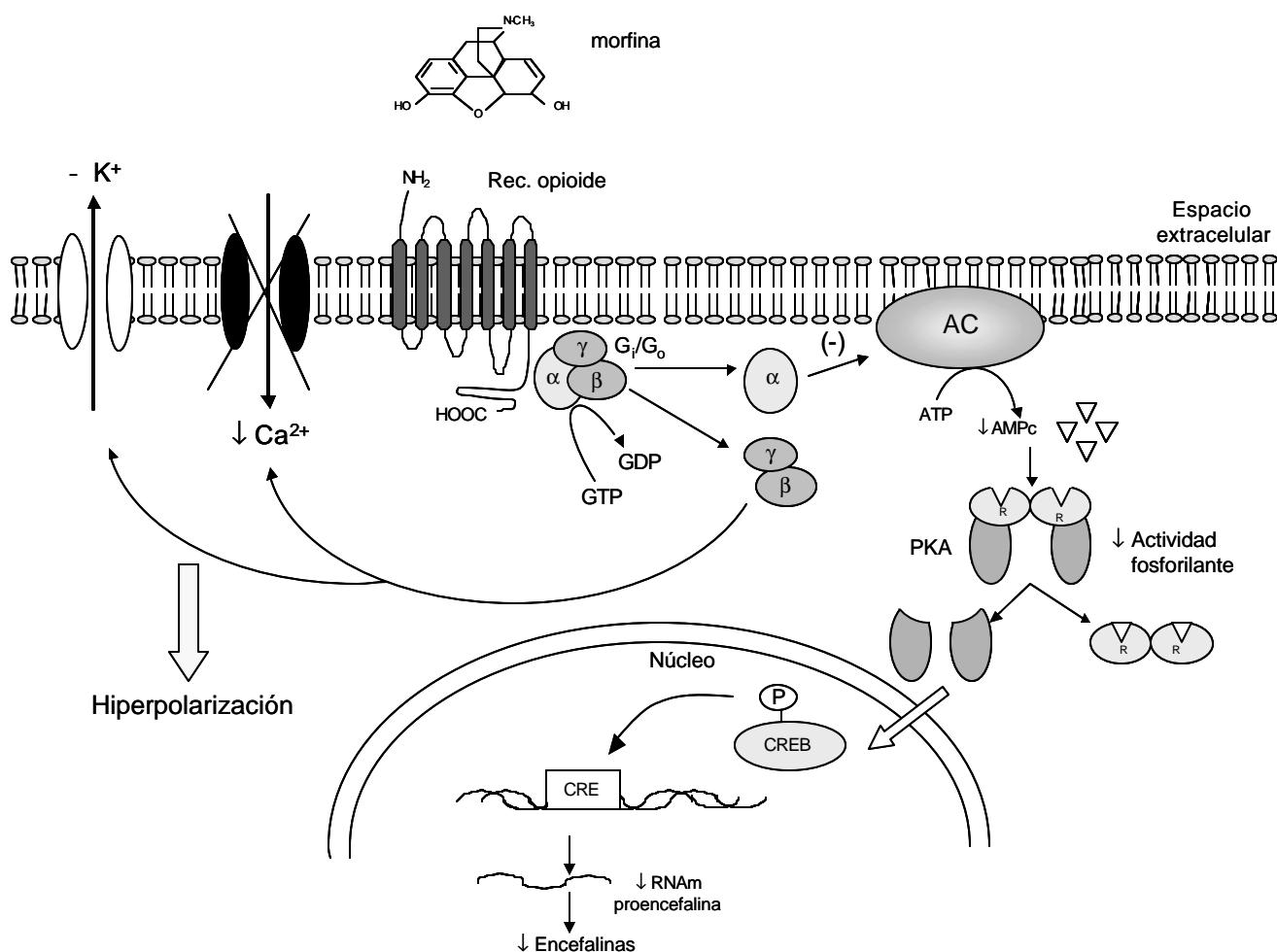


Fig. 1. Efectos inhibitorios agudos de los opioides. Los agonistas opioides interactúan con receptores acoplados a una proteína G inhibitoria (G_i/G_o), la cual se disocia en la subunidad α y el complejo $\beta\gamma$. Por medio de la subunidad α se inhibe la adenilato ciclase (AC), con lo cual disminuye la formación de AMPc (triángulos). Este segundo mensajero activa la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA) al unirse a las subunidades regulatorias (R) y liberar a las catalíticas, las cuales fosforilan a diversas proteínas. Entre éstas, la proteína CREB fosforilada (*cAMP response element binding protein*) actúa como factor de transcripción ya que se une a una región promotora del DNA llamada CRE y regula la síntesis de varias proteínas, incluida la de los péptidos opioides. Asimismo, los agonistas opioides activan los canales rectificadores entrantes de K^+ e inhiben los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje a través del complejo $\beta\gamma$ de la proteína G_i . Estos efectos se traducen en una hiperpolarización celular. Modificado de Feldman (10).

funcionalidad de sus receptores (7, 56). Está bien documentado que estos receptores se desensibilizan al ser fosforilados por cinasas de los receptores acoplados a proteínas G (GRKs). El receptor fosforilado reduce su afinidad por el agonista, se desacopla de la proteína G y se une a la β -arrestina, que es una proteína que promueve la internalización del receptor a través de la vía vesicular del complejo endocítico de las clatrininas y la dinamina (6, 11). A pesar de que esta desensibilización se ha observado en los receptores opioides, hay evidencias que ponen en duda la generalización de este mecanismo para explicar la tolerancia analgésica. Una de ellas es que el grado de fosforilación de los receptores opioides varía en función del tipo de receptor y del agonista. Por ejemplo, el receptor μ uni-

do a la morfina es un mal sustrato para ser fosforilado por las GRKs, por lo que presenta poca desensibilización e internalización, a pesar de lo cual la morfina produce un alto grado de tolerancia. Por otro lado, el fentanil, la etorfina o las encefalinas unidas al receptor μ constituyen mejores sustratos para las cinasas y producen mayor internalización del receptor, pero no por eso generan mayor tolerancia (20). Se sabe también que el receptor δ , asociado a sus agonistas específicos, se desensibiliza e internaliza más que el μ , y que este proceso se modifica cuando se forman heterodímeros $\mu\delta$ (51). Hay circunstancias en las que el receptor acoplado a la morfina puede presentar mayor endocitosis. Una de ellas es cuando se encuentra en un sistema con sobreexpresión de GRKs y de β -arrestinas (51); la otra

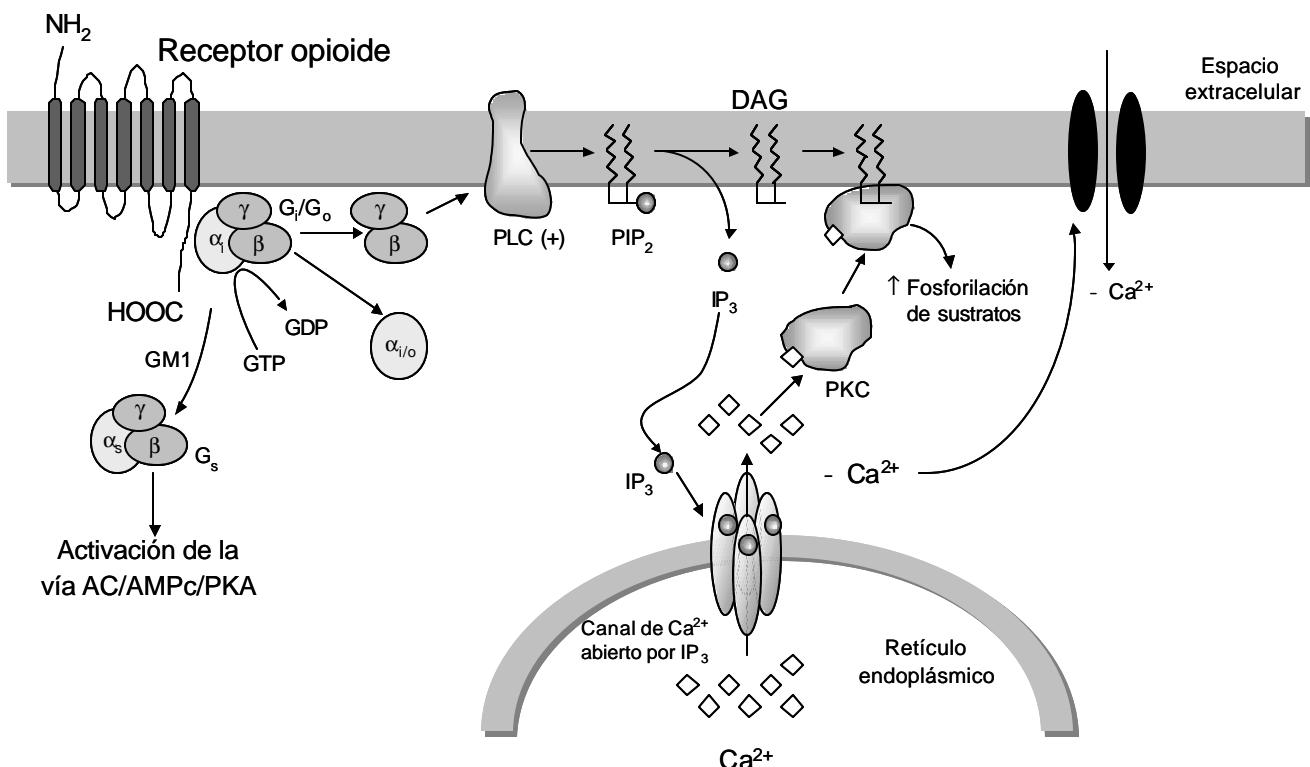


Fig. 2. Efectos estimulatorios de los opioides. El complejo $\beta\gamma$ de la proteína G activa la fosfolipasa C (PLC), la cual convierte el lípido membranal fosfatidil-inositol (PIP_2) en dos derivados: el trifosfato de inositol (IP_3) y el diacilglicerol (DAG). El DAG permanece en la membrana, mientras que el IP_3 difunde el citosol y se une a canales de Ca^{2+} del retículo endoplásmico para activarlos, lo que permite la salida de Ca^{2+} (rombos) al citoplasma. Este catión se une a la proteína cinasa C (PKC), la cual se trasloca a la membrana donde se une al DAG para activarse y fosforilar a diferentes sustratos, entre ellos, la propia PLC. Esta vía se densibiliza muy rápidamente en condiciones normales. Los receptores opioides también pueden acoplarse a una proteína G estimuladora (G_s) en lugar de a una proteína $G_{i/o}$ cuando están en presencia del gangliósido GM1. Adaptado de Crain y Shen (8) y Waldhoer (51).

es después de una exposición muy prolongada a la morfina, ya que en esta situación el receptor es fosforilado por la proteína cinasa A (PKA) y la proteína cinasa C (PKC) (47). En conjunto, estos datos indican que los cambios en el nivel de receptor podrían participar en el desarrollo de tolerancia analgésica, pero sólo parcialmente y sólo bajo ciertas circunstancias.

En lo que se refiere a los cambios en el número de receptores, los estudios son contradictorios ya que sólo en algunas áreas cerebrales se ha encontrado una correlación negativa entre el grado de tolerancia y el número de receptores (33, 37). En otros estudios no se ha encontrado disminución (16, 36) o incluso se han encontrado aumentos ligeros (59).

2.1. La teoría RAVE

Recientemente, Whistler y colaboradores (54) propusieron una explicación alternativa para el desarrollo de tolerancia. Esta tiene que ver con los cambios que ocurren en el nivel del receptor, pero con una visión opuesta a la tradicional. La teoría surgió a raíz

de resultados que mostraban que el grado relativo de señalización producido por un agonista podía estar relacionado o no con su capacidad de producir endocitosis del receptor. Por eso, propusieron el llamado índice RAVE que considera el grado de señalización del agonista, los cambios en el nivel intracelular, comparado con el grado de endocitosis del receptor (*Relative Agonist signaling Versus Endocytosis*). La morfina tiene un valor alto de RAVE porque casi no produce internalización del receptor, pero sí una señal intracelular muy importante. A su vez, el DAMGO, la metadona y algunos agonistas δ tienen un índice RAVE bajo, porque inducen internalización rápidamente. De acuerdo con esta teoría, los fármacos con un RAVE alto producirían mayor tolerancia. Esto estaría dado porque, al no favorecer la internalización del receptor, empujarían al sistema hacia cambios compensatorios más permanentes y difíciles de superar, como la hipertrofia de la vía de la adenilato ciclase (AC) (21, 51). Con base en esta teoría y en los hallazgos experimentales mencionados anteriormente, se ha propuesto que la

coadministración de morfina con algún otro agonista opioide, que induzca mayor internalización del receptor, podría disminuir el desarrollo de tolerancia (54).

3. Cambios en el nivel de la señalización intracelular

3.1. Hipertrofia del sistema de la AC

El cambio mejor caracterizado como respuesta a la exposición prolongada de opioides es la hipertrofia del sistema de la AC. Administrados agudamente, los opioides inhiben la AC por la interacción con proteínas Gi/Go (24). Crónicamente, la inhibición pierde eficacia porque esta vía se hipertrofia, a lo cual se le conoce como rebote de AMPc, supersensibilización o superactivación del sistema de AMPc (7, 52). Este sistema es modular en varios niveles. Por ejemplo, a la fecha se han descrito al menos nueve isoformas de la AC en mamíferos (44) y hay cuando menos seis isoformas de proteínas G que interactúan con la AC como respuesta a la unión del receptor con su agonista opioide. Se sabe que la activación persistente de los receptores opioides induce una regulación a la alta de algunas isoformas de la AC, en particular la dos, al mismo tiempo que hay una disminución en la actividad de las fosfodiesterasas encargadas de degradar el AMPc (24). Esto da como resultado que, aun en presencia del agonista opioide, haya buena señalización intracelular por esta vía. Si después se retira el agonista viene un rebote porque lo que antes estaba inhibido se suma a lo nuevo, generando una sobreproducción de AMPc con todas sus consecuencias, como el aumento de la actividad de la PKA, la actividad de CREB y la síntesis de proteínas. También se ha propuesto que a este aumento en la producción de AMPc puede contribuir el que, después de un tratamiento crónico con morfina, haya mayor acoplamiento o mayor actividad de la proteína Gs (8, 44). Sin duda, los cambios en la vía del AMPc son fundamentales para explicar la tolerancia analgésica.

3.2. Cambios en la conductancia de K⁺ y Ca²⁺

La activación aguda del receptor opioide incrementa la conductancia al K⁺ y disminuye la del Ca²⁺ a través del acoplamiento con el complejo βγ de la proteína Gi (51). Como consecuencia de la estimulación repetida de los receptores, estas respuestas se invierten porque los canales de K⁺ se desensibilizan y disminuyen las corrientes de K⁺ dependientes de voltaje (23). Además, la tolerancia opioide involucra cambios adaptativos en los canales de K⁺ sensibles a ATP (13). En el nivel de los canales de Ca²⁺ también hay cambios, ya que la exposición crónica a la morfina induce mayor expresión de canales de Ca²⁺ tipo L en animales tolerantes (34, 42, 53). En lo que se refiere a las implicaciones terapéuticas, se ha demostrado, tanto en

pacientes como en animales, que si se administra un bloqueador de los canales de Ca²⁺ tipo L como la nifedipina junto con la morfina hay menor desarrollo de tolerancia (2, 41).

3.3. Activación de la vía de IP₃, DAG

El mecanismo más común de activación de la fosfolipasa C (PLC) es a través de una proteína Gq; sin embargo, también se da, aunque con menor eficacia, por medio de una proteína Gi (49). La participación de esta vía es limitada cuando se presenta una exposición aguda de opioide ya que se desensibiliza en dos minutos aproximadamente (51). Sin embargo, como resultado de la exposición crónica al agonista opioide, este sistema aumenta su expresión por medio de mecanismos que aún no se conocen con precisión. Se ha propuesto que la activación de la PLC está asociada al desarrollo de tolerancia analgésica a la morfina (43) porque el segundo mensajero IP₃ promueve la liberación de calcio del retículo endoplásmico liso hacia el espacio intracelular, y un aumento de Ca²⁺ intracelular aumenta, a su vez, la actividad de varias enzimas que se tratan en las siguientes líneas.

3.4. Cambios en la actividad de otras enzimas

Existen varias enzimas dependientes de Ca²⁺ que se activan después de un tratamiento crónico con agonistas opioides, como la ciclooxygenasa (COX), principalmente la COX-2 y la sintasa de óxido nítrico (SON). Lo anterior se traduce en un aumento de la biosíntesis y liberación de mediadores hiperalgésicos, como las prostaglandinas y el óxido nítrico, que participan en la transmisión del dolor y contrarrestan los efectos analgésicos de la morfina (57, 58). La administración repetida de morfina también induce la activación enzimática de la fosfolipasa A₂ (PLA₂), lo cual incrementa la biodisponibilidad intracelular del ácido araquidónico, que es el sustrato de la COX. La exposición repetida y prolongada a los opioides implica una regulación a la alta de varias proteínas cinasas como la dependiente de calcio (PKC), la dependiente de AMPc (PKA), la dependiente de Ca²⁺-calmodulina II (CaMKII) y las activadas por mitógenos (MAPKs) (25). En organismos expuestos repetidamente a la morfina, estas proteínas cinasas median, junto con las GRKs, las fosforilaciones asociadas a la desensibilización e internalización de los receptores opioides (5), por lo que cumplen un papel en el desarrollo de la tolerancia analgésica a los opioides.

4. Cambios en el nivel de otros sistemas

4.1. Activación de los receptores NMDA

Desde que el grupo de Trujillo sugirió por primera vez la participación de los receptores glutamatérgicos

de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) en la tolerancia analgésica a la morfina (46) se han acumulado evidencias de que una variedad de antagonistas que actúan en diferentes sitios de este receptor (competitivos, no competitivos y del sitio regulador de la glicina) inhiben el desarrollo de la tolerancia analgésica opioide (27, 45), y algunos incluso revierten gradualmente la tolerancia ya establecida (22). Asimismo, hay evidencia de que en los animales tolerantes se incrementa la afinidad de los receptores NMDA y hay una regulación a la baja de los transportadores espinales de glutamato, por lo que aumenta la actividad excitatoria (58). Los receptores NMDA tienen una participación crucial en el desarrollo de la tolerancia analgésica opioide debido a que su activación induce un aumento del influjo de Ca^{2+} , lo cual se traduce en un incremento de la excitabilidad neuronal. Esto puede llevar a un aumento en la sensibilidad dolorosa que hace que disminuya la eficacia de los analgésicos opioides e incluso induce neurotoxicidad (29). Debido al aumento de calcio, hay mayor activación de la PKC. Esta cinasa fosforila al receptor NMDA (28), el cual sufre un cambio conformacional que provoca que el magnesio, que normalmente bloquea el canal, se elimine y deje el paso libre a los iones de sodio y calcio al interior celular, con lo que impulsa un ciclo de retroalimentación positiva. La importancia de este mecanismo radica en que diversos fármacos que actúan sobre los sistemas de segundos mensajeros asociados a la activación del receptor NMDA, como los inhibidores de la SON o de la PKC, inhiben el desarrollo de tolerancia de forma muy similar a como lo hacen los antagonistas del receptor NMDA, lo que sugiere que la activación de este receptor no es la culminación de este proceso.

4.2. Participación de sistemas anti opioides

Los mecanismos previamente descritos no explican ciertas formas de tolerancia, como cuando la morfina pierde su eficacia sin inducir cambios significativos en los receptores y en las vías transduccionales. Por eso se ha postulado que en la tolerancia puede presentarse también una activación gradual de sistemas antiopioides (40). Entre ellos se encuentran la familia de péptidos Tyr-Pro-Leu-Gly-NH₂ (Tyr-MIF-1 o factor inhibidor de melanocitos), el neuropéptido FF (NPFF), la nociceptina u orfanina FQ (OFQ), y la colecistocinina (CCK) (47).

En condiciones fisiológicas, estos sistemas regulan y compensan el sistema opioide endógeno para mantener la homeostasis. Sin embargo, la administración repetida de opiáceos exógenos puede producir una mayor liberación de estos péptidos y, por lo tanto, una disminución de su efecto analgésico (16). Aunque se desconocen los mecanismos moleculares por los que

se activan los sistemas antiopioides, se especula que la superactivación de la vía del AMPc/PKA/CREB podría aumentar la expresión de sus genes (51). Está demostrado que los péptidos antiopioides participan en el desarrollo de tolerancia analgésica opioide. Aun así, también se sabe que estos péptidos pueden tener efectos complejos en función del tipo de receptor que activen y de la región del Sistema Nervioso en que se encuentren. Por lo anterior se sugiere que deberían denominarse “péptidos modulatorios de los péptidos opioides” (4).

4.3. Participación de otros sistemas de neurotransmisión

El efecto analgésico producido por los agonistas opioides está mediado parcialmente por su interacción con otros sistemas de neurotransmisión, entre los que destacan los involucrados en el sistema de modulación descendente del dolor (31, 50). A la fecha se ha reportado que el sistema serotoninérgico, el noradrenérgico, el GABAérgico, el dopaminérgico, el histaminérgico, el adenosinérgico y el colinérgico participan en algún grado en el desarrollo de la tolerancia analgésica opioide (1, 3, 32). Con todo, el papel de algunos de ellos es mínimo y sólo se hace evidente en el síndrome de abstinencia cuando hay un rebote de los sistemas previamente inhibidos por el agonista opioide (39).

Finalmente, algunos autores proponen que el desarrollo de tolerancia a los efectos analgésicos de los opioides se asocia con el desarrollo y la expresión de hiperalgesia, ya que ambos fenómenos se interrelacionan por mecanismos neuronales comunes que involucran la activación de los receptores NMDA en la médula espinal (28). Reportes clínicos sugieren que la administración repetida de opioides puede inducir hiperalgesia y/o alodinia, por lo cual la tolerancia analgésica podría deberse, al menos en parte, a un incremento en la activación de los mecanismos descendentes facilitadores del dolor (48, 49).

Entre las estructuras involucradas en las adaptaciones que se presentan durante el desarrollo de tolerancia analgésica opioide destacan la sustancia gris periacueductal (SGPA), el núcleo del rafé magno (NRM), el *locus coeruleus* (LC), y muy importantemente, la médula espinal.

Como puede observarse por las evidencias revisadas, la tolerancia analgésica a los opioides es un fenómeno complejo que involucra cambios moleculares diversos y adaptaciones neuronales en diferentes niveles, entre los que destacan los eventos relacionados con un aumento de calcio intracelular. En la figura 3 se resumen algunos de los cambios intracelulares observados con la administración crónica de agonistas opioides.

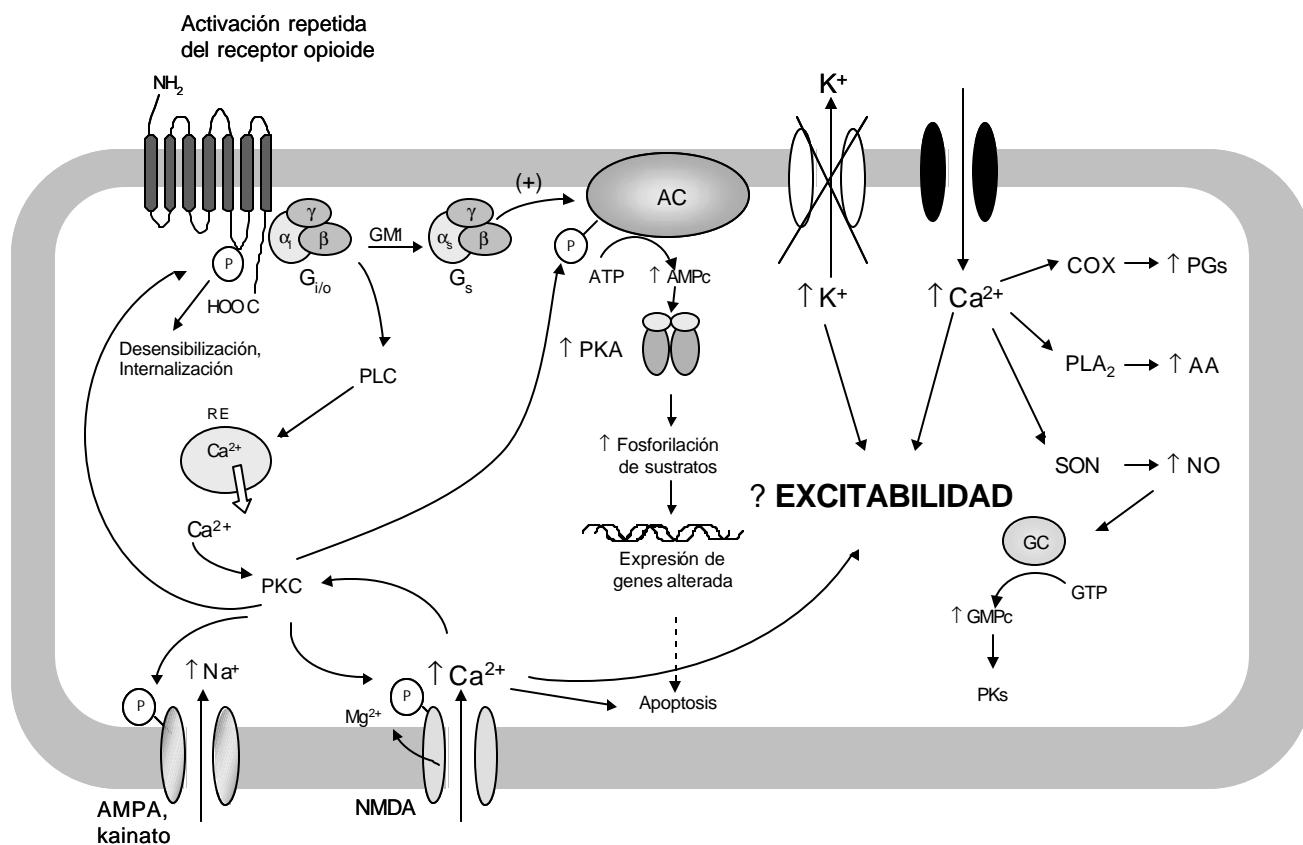


Fig. 3. Cambios adaptativos en la tolerancia analgésica a opioides. La activación repetida de los receptores opioides induce una regulación a la alta de la adenilato ciclase (AC) y facilita la interconversión de la proteína Gi a Gs, lo cual conduce a la hipertrofia o superactivación del sistema AC/AMPc/PKA. Por otro lado, los canales de K⁺ se desensibilizan y hay una sobre expresión de canales de Ca²⁺ tipo L. Aunada a estos cambios, la activación de la vía de la fosfolipasa C (PLC) se hace mucho más eficiente, por lo que se libera Ca²⁺ del retículo endoplásmico (RE) y se activa la PKC (véase figura 2). Esta cinasa fosforila al receptor glutamatérgico del tipo NMDA, con lo que produce la remoción del bloqueo del Mg²⁺ de este canal y el influjo de Ca²⁺ extracelular. El Ca²⁺ activa varias enzimas entre las que destacan la propia PKC, la proteína cinasa dependiente de Ca²⁺-calmodulina (CaMKII, no mostrada), la ciclooxigenasa (COX), la fosfolipasa A₂ (PLA₂) y la sintasa del óxido nítrico (SON). Como resultado, aumenta la síntesis de prostaglandinas (PGs), del ácido araquidónico (AA) y del óxido nítrico (ON), que son mediadores hiperalgésicos. El ON activa la guanilato ciclase (GC) produciendo un aumento de GMpc. Por otro lado, la PKC fosforila receptores glutamatérgicos de tipo AMPA y kainato facilitando la entrada de Na⁺. Tanto la PKC como la PKA y las cinasas de los receptores acoplados a proteínas G (PKs) pueden fosforilar al receptor opioide, lo que conduce a su desensibilización, internalización y/o regulación a la baja. El incremento de Ca²⁺ intracelular y de la activación de diversas proteínas cinasas modifica la expresión de diversos genes, lo cual puede producir apoptosis. Todas estas alteraciones en las vías de señalización se traducen en un incremento en la descarga neuronal y en un estado de hiperexcitabilidad celular.

CONCLUSIONES

A pesar de la amplia investigación en este campo, todavía no se conocen por completo los mecanismos que subyacen al desarrollo de tolerancia analgésica a los opioides. Sin embargo, décadas de estudio han establecido que el desarrollo de este fenómeno puede involucrar modificaciones en el receptor, alteraciones adaptativas en las principales vías de señalización, regulación en la expresión de genes y cambios en diferentes sistemas de neurotransmisión. Cada uno de estos mecanismos puede contribuir a la pérdida de la respuesta analgésica a los opioides; sin embargo, falta determinar su importancia relativa en este proceso. Estudios recientes sugieren que la disminución en el

número de receptores no es el mecanismo principal, lo cual ha llevado a poner mayor interés en el antagonismo funcional de los efectos de los opioides, como la hipertrofia del sistema de la AC, la activación de los receptores NMDA y el aumento en los niveles de Ca²⁺ intracelular. Los fármacos que bloquean estos mecanismos han probado tener diferentes grados de eficacia para prevenir o disminuir el desarrollo de la tolerancia analgésica a los opiáceos (3, 38), por lo que parte de la investigación actual se centra en el desarrollo de antagonistas NMDA clínicamente eficaces desprovistos de efectos adversos importantes. Otra estrategia muy promisoria es la de usar combinaciones de dosis bajas de opioides con analgésicos anti inflamatorios no esteroideos (AINES). Con esta aproximación se

disminuyen los efectos adversos propios de las dosis altas de los compuestos individuales, a la vez que es posible obtener una potenciación de los efectos analgésicos (17-19, 26). Además de las aproximaciones farmacológicas, es necesario tener en cuenta que el buen mantenimiento de los niveles terapéuticos de los analgésicos opioides y la correcta administración de las dosis son fundamentales para evitar el desarrollo de tolerancia.

Agradecimientos

Las autoras agradecen el apoyo de PROMEP (donativo PROMEP/103.5/04/1420 a GPHD) y del CONACYT (donativo 43604-M a SLC) para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. ALEY KO, LEVINE JD: Multiple receptors involved in peripheral α_2 , μ , and Δ antinociception, tolerance, and withdrawal. *J Neurosci*, 17(2):735-744, 1997.
2. ANTKIEWICZ-MICHALUK L, MICHALUK J, ROMANSKA I, VETULANI J: Reduction of morphine dependence and potentiation of analgesia by chronic co-administration of nifedipine. *Psychopharmacology*, 111:457-464, 1993.
3. BHARGAVA HN: Diversity of agents that modify opioid tolerance, physical dependence, abstinence syndrome, and self-administrative behavior. *Pharmacol Rev*, 46:293-324, 1994.
4. CESSELIN F: Opioid and anti-opioid peptides. *Fundam Clin Pharmacol*, 9:409-433, 1995.
5. CHAKRABARTI S, OPPERMANN M, GINTZLER AR: Chronic morphine induces the concomitant phosphorylation and altered association of multiple signaling proteins: a novel mechanism for modulating cell signaling. *Proc Natl Acad Sci*, 98:4209-4214, 2001.
6. CLAING A, LAPORTE SA, CARON MG, LEFKOWITZ RJ: Endocytosis of G protein-coupled receptors: roles of G protein-coupled receptor kinases and β -arrestin proteins. *Prog Neurobiol*, 66:61-79, 2002.
7. COX BM: Mechanisms of tolerance. En: Stein C (ed). *Opioids in Pain Control*. Cambridge University Press, 109-130, Nueva York, 1999.
8. CRAIN SM, SHEN KF: Modulation of opioid analgesia, tolerance and dependence by Gs-coupled, GM1 ganglioside-regulated opioid receptor functions. *Trends Pharmacol Sci*, 19:358-365, 1998.
9. DHAWAN BN, CESSELIN F, RAGHUBIR R, REISINE T, BRADLEY PB, PORTOGHESE PS, HAMON M: International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol Rev*, 48:567-592, 1996.
10. FELDMAN RS, MEYER JS, QUENZER LF: *Principles of Neuropsychopharmacology*. Sinauer Associates, Massachusetts, 1997.
11. FERGUSON SSG: Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacol Rev*, 53:1-24, 2001.
12. GAVERIAUX-RUFF C, KIEFFER B: Opioid receptors: gene structure and function. En: Stein C (ed). *Opioids in Pain Control*. Cambridge University Press, 1-20, Nueva York, 1999.
13. GONZALEZ LG, PORTILLO E, DEL POZO E, BAEYENS JM: Changes in ^3H glibenclamide binding to mouse forebrain membranes during morphine tolerance. *Eur J Pharmacol*, 418:29-37, 2001.
14. GUTSTEIN HB, AKIL H: Opioid analgesics. En: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A (eds). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw Hill, 569-619, Nueva York, 2001.
15. HAIGH RC, BLAKE DR: Understanding pain. *Clin Med*, 1:44-48, 2001.
16. HARRISON LM, KASTIN AJ, ZADINA JE: Opiate tolerance and dependence: receptors, G-proteins, and antiopiates. *Peptides*, 19:1603-1630, 1998.
17. HERNANDEZ-DELGADILLO GP, CRUZ SL: Dipyrone potentiates morphine-induced antinociception in dipyrone-treated and morphine-tolerant rats. *Eur J Pharmacol*, 502:67-73, 2004.
18. HERNANDEZ DELGADILLO GP, LOPEZ-MUÑOZ FJ, SALAZAR LA, CRUZ SL: Morphine and dipyrone co-administration delays tolerance development and potentiates antinociception. *Eur J Pharmacol*, 469:71-79, 2003.
19. HERNANDEZ-DELGADILLO GP, VENTURA-MARTINEZ R, DIAZ REVAL MI, DOMINGUEZ RAMIREZ AM, LOPEZ-MUÑOZ FJ: Metamizol potentiates opiate antinociception but not constipation after chronic treatment. *Eur J Pharmacol*, 441:177-183, 2002.
20. KEITH DE, MURRAY SR, ZAKI PA, CHU PC, LISSIN DV, KANG L, EVANS CJ, VON ZASTROW M: Morphine activates opioid receptors without causing their rapid internalization. *J Biol Chem*, 277:19021-19024, 1996.
21. KIEFFER BL, EVANS CJ: Opioid tolerance- In search of the Holy Grail. *Cell*, 108:587-590, 2002.
22. KOLESNIKOV Y, PASTERNAK GW: Topical opioids in mice: Analgesia and reversal of tolerance by a topical N-methyl-D-aspartate antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*, 290:247-252, 1999.
23. KOVOOR A, HENRY DJ, CHAVKIN C: Agonist-induced desensitization of the mu opioid receptor-coupled potassium channel (GIRK1). *J Biol Chem*, 270:589-595, 1995.
24. LAW PY, WONG YH, LOH HH: Molecular mechanisms and regulation of opioid receptor signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 40:389-430, 2000.
25. LIU JG, ANAND KJS: Protein kinases modulate the cellular adaptations associated with opioid tolerance and dependence. *Brain Res Rev*, 38:1-19, 2001.
26. LOPEZ-MUÑOZ FJ: Surface of synergistic interaction between dipyrone and morphine in the PIFIR model. *Drug Dev Res*, 33:26-32, 1994.
27. MAO J: NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Res Rev*, 30:289-304, 1999.
28. MAO J, MAYER DJ: Spinal cord neuroplasticity following repeated opioid exposure and its relation to pathological pain. *Ann N Y Acad Sci*, 933:175-184, 2001.
29. MAO J, SUNG B, JI RR, LIM G: Neuronal apoptosis associated with morphine tolerance: evidence for an opioid-induced neurotoxic mechanism. *J Neurosci*, 22(17):7650-7661, 2002b.
30. MAYER DJ, MAO J, HOLT J, PRICE DD: Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci*, 96:7731-7736, 1999.
31. MILLAN MJ: Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, 66:355-474, 2002.
32. MORGAN MM, CLAYTON CC, LANE DA: Behavioral evidence linking opioid-sensitive GABAergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray to morphine tolerance. *Neuroscience*, 118:227-232, 2003.
33. NISHINO K, SU YF, WONG CS, WATKINS WD, CHANG KJ: Dissociation of mu opioid tolerance from receptor down-regulation in rat spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther*, 253:67-72, 1990.
34. OHNISHI T, SAITO K, MAEDA S, MATSUMOTO K, SAKUDA M, INOKI R: Intracerebroventricular treatment

- of mice with pertussis toxin induces hyperalgesia and enhances ^3H -nitrendipine binding to synaptic membranes: similarity with morphine tolerance. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 341:123-127, 1990.
35. OUELLET DMC, POLLACK GM: Effect of prior morphine-3-glucuronide exposure on morphine disposition and antinociception. *Biochem Pharmacol*, 53:1451-1457, 1997.
 36. POLASTRON J, MEUNIER JC, JAUXAC P: Chronic morphine induces tolerance and desensitization of μ -opioid receptor but not down-regulation in rabbit. *Eur J Pharmacol*, 266:139-146, 1994.
 37. PUTTFARCKEN PS, COX BM: Morphine-induced desensitization and down-regulation at mu-receptors in 7315C pituitary tumor cells. *Life Sci*, 45:1937-1942, 1989.
 38. RAITH K, HOCHHAUS G: Drugs used in the treatment of opioid tolerance and physical dependence: a review. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 42:191-203, 2004.
 39. ROHDE DS, BASBAUM AI: Activation of coerulospinal noradrenergic inhibitory controls during withdrawal from morphine in the rat. *J Neurosci*, 18(11):4393-4402, 1998.
 40. ROTHMAN RB: A review of the role of anti-opioid peptides in morphine tolerance and dependence. *Synapse*, 12:129-138, 1992.
 41. SANTILLAN R, HURLE MA, ARMIJO JA, MOZOS R, FLOREZ J: Nimodipine-enhanced opiate analgesia in cancer patients requiring morphine dose escalation: a double-blind, placebo-controlled study. *Pain*, 76:17-26, 1998.
 42. SMITH FL, DOMBROWSKI DS, DEWEY WL: Involvement of intracellular calcium in morphine tolerance in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 62:381-388, 1999a.
 43. SMITH FL, LOHMANN AB, DEWEY WL: Involvement of phospholipid signal transduction pathways in morphine tolerance in mice. *Br J Pharmacol*, 128:220-226, 1999b.
 44. TANG WJ, HURLEY JH: Catalytic mechanism and regulation of mammalian adenylyl cyclases. *Mol Pharmacol*, 54:231-240, 1998.
 45. TRUJILLO KA: Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavioral plasticity? A review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 151:121-141, 2000.
 46. TRUJILLO KA, AKIL H: Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science*, 251:85-87, 1991.
 47. UEDA H, INOUE M, MIZUNO K: New approaches to study the development of morphine tolerance and dependence. *Life Sci*, 74:313-320, 2003.
 48. VANDERAH TW, OSSIPOV MH, LAI J, MALAN TP, PORRECA F: Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. *Pain*, 92:5-9, 2001.
 49. VARGA EV, YAMAMURA HI, RUBENZIK MK, TROPOVAD, NAVRATILOVA E, ROESKE WR: Molecular mechanisms of excitatory signaling upon chronic opioid agonist treatment. *Life Sci*, 74:299-311, 2003.
 50. VILLANUEVA L, LE BARS D: The activation of bulbo-spinal controls by peripheral nociceptive inputs: diffuse inhibitory controls. *Biol Res*, 28:113-125, 1995.
 51. WALDHOER M, BARTLETT SE, WHISTLER JL: Opioid receptors. *Annu Rev Toxicol*, 73:953-990, 2004.
 52. WATTS VJ: Molecular mechanisms for heterologous sensitization of adenylate cyclase. *J Pharmacol Exp Ther*, 302:1-7, 2002.
 53. WELCH SP, OLSON KG: Opiate tolerance-induced modulation of free intracellular calcium in synaptosomes. *Life Sci*, 48:1853-1861, 1991.
 54. WHISTLER JL, CHUANG HH, CHU P, JAN LY, VON ZASTROW M: Functional dissociation of mu opioid receptor signaling and endocytosis: implications for the biology of opiate tolerance and addiction. *Neuron*, 23:737-746, 1999.
 55. WHISTLER JL, ENQUIST J, MARLEY A, FONG J, GLADHER F, TSURUDA P, MURRAY SR, VON ZASTROW M: Modulation of postendocytic sorting of G protein-coupled receptors. *Science*, 297:615-620, 2002.
 56. WILLIAMS JT, CHRISTIE MJ, MANZONI O: Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev*, 81:299-343, 2001.
 57. WONG CS, HSU MM, CHOU R, CHOU YY, TUNG CS: Intrathecal cyclooxygenase inhibitor administration attenuates morphine antinociceptive tolerance in rats. *Br J Anaesth*, 85:747-751, 2000a.
 58. WONG CS, HSU MM, CHOU YY, TAO PL, TUNG CS: Morphine tolerance increases ^3H JK-801 binding affinity and constitutive neuronal nitric oxide synthase expression in rat spinal cord. *Br J Anaesth*, 85:587-591, 2000b.
 59. ZADINA JE, KASTIN AJ, HARRISON LM, GE LJ, CHANG SL: Opiate receptor changes after chronic exposure to agonists and antagonists. *Ann NY Acad Sci*, 757:353-361, 1995.