

## Fisiología de los neuropéptidos

M.J. García-López, J.M. Martínez-Martos, M.D. Mayas,  
M.P. Carrera, M.J. Ramírez-Expósito

### PHYSIOLOGY OF NEUROPEPTIDES

**Summary.** Objectives. In the present review, the characteristics of mammalian neuropeptides have been studied. Development. Neuropeptides are widely distributed not only in the nervous system but also in the periphery. They are synthesized by neurons as large precursor molecules (pre-propeptides) which have to be cleaved and modified in order to form the mature neuropeptides. Neuropeptides may exert actions as neurotransmitters, neuromodulators and/or neurohormones. In the neurons, they coexist with classic transmitters and often with other peptides. After their releasing, they bind to specific receptors to exert their action in the target cell. Most of these receptors belongs to a family of G protein coupled receptors. Finally, peptidases are the enzymes involved in the degradation of neuropeptides. Conclusions. In the last years, the number of known neuropeptides and the understanding of their functions have been increased. With these data, present investigations are looking for the treatment of different pathologies associated with alterations in the physiology of neuropeptides. [REV NEUROL 2002; 35: 784-93]

**Key words.** Neurohormone. Neuropeptide. Neurotransmitter. Peptidase.

### INTRODUCCIÓN

Durante el curso de la evolución, el sistema nervioso ha aumentado la diversidad de su capacidad de respuesta. Parte de esta diversidad es el resultado de un aumento no sólo de los tipos de células sino también del número de sus interconexiones, muchas de las cuales dependen de la disponibilidad de neurotransmisores. Estudios electrofisiológicos realizados en las décadas pasadas mostraron la existencia de nuevos compuestos, además de los neurotransmisores clásicos, que afectaban a la actividad eléctrica del cerebro, entre los que se incluyeron los neuropéptidos (NP) [1].

Los NP constituyen el mayor grupo de sustancias para la comunicación célula-célula bien como mensajeros hormonales, bien como neurotransmisores y neuromoduladores. Tienen un tamaño variable (3-40 aminoácidos) y pueden afectar a tejidos y órganos neuronales y no neuronales. Se han localizado tanto en los cuerpos celulares como en las proyecciones de neuronas, y se ha comprobado que su localización es discreta y característica de cada uno de ellos, tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en la periferia [2].

### LOS NEUROPEPTIDOS COMO NEUROTRANSMISORES, NEUROMODULADORES Y NEUROHORMONAS

Para que una sustancia se considere como neurotransmisor en sentido estricto, debe cumplir cuatro requisitos [3]:

- Debe sintetizarse en la neurona.
- Debe estar presente en el terminal nervioso y liberarse en

cantidades necesarias para ejercer su acción sobre la neurona postsináptica o el órgano efector.

- Su administración exógena, en concentraciones apropiadas, debe provocar el mismo efecto que el obtenido cuando la sustancia se libera de forma endógena.
- Debe existir un mecanismo específico para eliminar la sustancia del espacio sináptico.

Son muchos los péptidos que cumplen estos cuatro requisitos y por lo tanto deben considerarse neurotransmisores. Sin embargo, para algunos autores no lo son, ya que también poseen características especiales que los diferencian de los neurotransmisores clásicos. Así, los NP se almacenan en vesículas grandes alejadas de la membrana sináptica. Incluso se han detectado vesículas que contienen péptidos en las dendritas, por lo que también se ha sugerido una liberación dendrítica [4]. Por el contrario, los neurotransmisores clásicos se almacenan en vesículas pequeñas cercanas a la membrana y, por lo tanto, son más accesibles para la liberación de su contenido en la sinapsis [5].

Como punto desfavorable para considerar a los NP como neurotransmisores se ha citado el hecho de que su disponibilidad dependa de la síntesis y procesamiento de su precursor [6]. Sin embargo, los péptidos son más potentes que los neurotransmisores clásicos por varias razones. Así, las concentraciones necesarias para activar a sus receptores son menores que las requeridas para los neurotransmisores clásicos, de forma que cantidades muy pequeñas de NP pueden ser eficaces. De hecho, aunque la concentración de péptidos cerebrales es del orden de  $10^{-12}$ - $10^{-15}$  mol/mg de proteína, infinitamente menor que la de otros neurotransmisores como la acetilcolina o la norepinefrina ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  mol/mg), los NP son fisiológicamente activos en los terminales nerviosos a estas concentraciones tan bajas. Además, actúan a través de vías intracelulares que pueden proporcionar una amplificación significativa; y finalmente, los mecanismos que eliminan a los NP de la hendidura sináptica son más lentos que los de los neurotransmisores clásicos, por lo que permanecen accesibles a sus receptores durante periodos mayores [7].

Por otro lado, los NP podrían considerarse, además de neurotransmisores, neuromoduladores. Una sustancia se considera

Recibido: 18.01.02. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 28.01.02.

Área de Fisiología. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén. Jaén, España.

Correspondencia: Dra. María Jesús Ramírez-Expósito. Área de Fisiología. Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad de Jaén. Paraje Las Lagunillas, s/n. E-23071 Jaén. Fax: +34 953 012 141. E-mail: mramrez@ujaen.es

© 2002, REVISTA DE NEUROLOGÍA

neuromoduladora cuando es capaz de modificar la acción de otros neurotransmisores. Existen numerosas evidencias que ponen de manifiesto el carácter neuromodulador de los NP, que además se ve favorecido por algunas de sus características, como su lenta degradación y su amplia difusión, lo que permite controlar grupos neuronales localizados incluso en puntos lejanos a los de su liberación [3,8].

El papel neuromodulador de los NP se basa en la regulación de la liberación de distintos neurotransmisores en distintas neuronas [9,10], ya que los receptores de NP también se pueden localizar presinápticamente sobre las terminales de dichas neuronas [3]. Por lo tanto, la neuromodulación provocada por los NP se refiere a los cambios transitorios en la eficacia de una neurona presináptica para controlar el comportamiento de una neurona postsináptica (es decir, su eficacia sináptica). Los cambios originados por los neuromoduladores en la eficacia sináptica tienen una duración que varía entre segundos y minutos, y es este período lo que diferencia la neuromodulación de la plasticidad sináptica [11].

Finalmente, los NP también pueden actuar como neurohormonas. Una neurohormona actúa sobre una población de receptores distante tras liberarse desde su punto de síntesis directamente a la sangre o al líquido extracelular a través del cual se transporta hasta las células (incluyendo las neuronas) sobre las que actúa [11].

En general, un neuropéptido concreto puede actuar como neurotransmisor en una sinapsis y poseer acciones moduladoras u hormonales (acciones paracrinas) en otros lugares próximos o distantes, que posean receptores para esta sustancia. Muchos NP que se presentan en el cerebro existen también en el sistema gastrointestinal, donde actúan como hormonas o neurotransmisores periféricos; de hecho, algunos NP se descubrieron inicialmente en tejidos viscerales y sólo más tarde se identificaron en las neuronas. La hormona gastrointestinal glucagón es un buen ejemplo [12].

## BIOSÍNTESIS DE LOS NEUROPEPTIDOS

Los trabajos pioneros de la insulina y lipotropina publicados en 1967 [13] formularon la hipótesis de que los péptidos biológicamente activos derivaban de un largo precursor que se escindía enzimáticamente. Esta hipótesis fue corroborada a partir de 1979 [14], ya que al comenzar con la preproopiomelanocortina (POMC), se aisló un elevado número de clones de ADNc que predecían la estructura primaria completa de sus respectivos precursores peptídicos. Se demostró que los NP se sintetizan originariamente en forma de largos precursores polipeptídicos. La determinación de las secuencias de aminoácidos de los precursores culminó con el descubrimiento de las denominadas poliproteínas, llamadas así porque servían de precursor de más de un péptido biológicamente activo [15]. Estos precursores, también denominados prohormonas, son fraccionados después por enzimas específicas en fragmentos más pequeños, algunos de los cuales constituyen los NP que se liberarán posteriormente [16].

De este modo, se concluyó que todos los NP se sintetizan en forma de prepeptidos que incluyen una secuencia señal hidrofóbica (de 15-30 aminoácidos) en el extremo aminoterminal para facilitar la translocación a través de la membrana del retículo endoplasmático (RE) durante su síntesis [17]. Algunos precursores contienen sólo un péptido bioactivo que además representa sólo una pequeña fracción de la secuencia [18]. Los péptidos bioactivos insertos en la proteína precursora están flanqueados por pares de aminoácidos básicos, normalmente Lys y

Arg. Por tanto, en una proproteína que contiene varios péptidos bioactivos, éstos están separados por combinaciones de ambos aminoácidos, aunque la separación también puede ser llevada a cabo por un solo aminoácido. Estas regiones separadoras constituyen los sitios de escisión para las enzimas proteolíticas [19].

Las poliproteínas se pueden agrupar en tres tipos diferentes en función de los péptidos que generan:

- El primer tipo estaría constituido por aquellas poliproteínas con duplicaciones de una secuencia idéntica. Entre ellas cabe destacar el precursor de la hormona liberadora de tirotrina (TRH), que contiene cinco copias de la hormona [20].
- El segundo grupo de poliproteínas engloba aquellas que contienen secuencias relacionadas, como es el caso de la preproencefalina, el péptido preprointestinal -que codifica para el péptido intestinal vasoactivo (PIV) y para el péptido histidina metionina-27 (PHM-27)-, la POMC -que codifica para la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) y varias hormonas estimulantes de melanocitos y endorfinas-, la preprohipopreatina -precursora de los NP hipotalámicos descritos recientemente- y la hipopreatina 1 y 2 -también denominadas orexina A y B- [21,22].
- Existe un tercer tipo de poliproteínas que generan péptidos con funciones biológicas diferentes. Entre ellas se pueden citar la protacina A, de la que deriva la sustancia P, y la neurocinina A [23]. Sin embargo, la neurocinina B está codificada por un gen diferente [24], por lo que se demuestra que los NP de una familia específica pueden derivar de precursores diferentes.

En relación con estos datos, es interesante mencionar que, en general, los precursores que llevan duplicaciones de la misma secuencia se han encontrado en organismos inferiores, mientras que los precursores con dominios de péptidos bioactivos más diversos han sido localizados en organismos superiores. Esto podría indicar que la duplicación de secuencias codificantes para péptidos ocurrió pronto en la evolución de poliproteínas y que, consecuentemente, la diversificación de estas secuencias duplicadas ocurrió durante un período prolongado. La duplicación podría ser el modo más eficaz de aumentar el genoma y, a través de mutaciones, incrementar el número y función de las proteínas [25].

Las poliproteínas, por lo tanto, pueden dar lugar a una amplia variedad de NP necesaria para mediar en distintas funciones fisiológicas. Sin embargo, éste no es el único mecanismo para crear diversidad en la producción de NP bioactivos. Todos los pasos que median en la expresión de un gen codificante para una poliproteína pueden estar involucrados en la generación de diversidad, incluso la expresión de un gen para una poliproteína puede estar regulada diferencialmente en distintos tejidos. La evolución de la poliproteína es un paso crítico para determinar qué NP liberará una neurona peptidérgica. Las neuronas con el mismo gen codifican una poliproteína que puede liberar distintos NP dependiendo de los diversos modos de procesar el precursor poliproteínico. Así, por ejemplo, existe el mismo ARNm para la POMC en los lóbulos anterior e intermedio de la pituitaria, en el hipotálamo y en otras regiones del encéfalo, así como en la placenta, el intestino, los ovarios o los testículos. Sin embargo, se producen y liberan distintos péptidos en cada uno de los tejidos citados [26-28].

En general, la síntesis de los NP tiende a seguir el patrón descrito para las hormonas peptídicas y otras proteínas secretoras.

La expresión de los genes que dan lugar a los NP está regulada por una compleja serie de controles positivos y negativos por parte de otros NP y neurotransmisores [17]. A diferencia de los neurotransmisores pequeños, que pueden sintetizarse en los terminales sinápticos, los NP se fabrican en el cuerpo celular y se transportan a lo largo de los axones hasta los terminales. En el núcleo de la célula, los genes codifican la formación de ARNm, el cual dará lugar a la preproteína que debe sufrir una translocación al interior del lumen del retículo endoplasmático rugoso (RER), que se verá facilitada por la hidrofobicidad de la secuencia señal del extremo N-terminal; ésta será eliminada de la proteína por una endopeptidasa antes de que se complete la translación. Esta translación puede producirse postranslacionalmente, cuando la preproteína se sintetiza completamente en los ribosomas citosólicos antes de ser translocados, o cotranslacionalmente, cuando los ribosomas asociados a la membrana del RE dirigen la cadena nascente de polipéptido en el RE concomitante con la elongación del polipéptido [29]. En cualquier caso, las preproteínas son elegidas como blanco en la membrana del retículo a través de interacciones específicas con factores citosólicos o de membrana del RER. La preproteína se transfiere entonces a una maquinaria de translocación multiproteica en la membrana del RER, que incluye un poro a través del cual la preproteína pasa al lumen del RER. La energía requerida para llevar a cabo la translocación proteica puede derivar del acoplamiento entre translación y translocación (durante la translocación cotranslacional), o de chaperones moleculares del lumen del RER, que pueden enganchar la preproteína o regular la maquinaria de translocación (durante la translocación postranslacional) [29]. Por lo tanto, en las cisternas del RE, la secuencia *pre* se desintegra para producir la preproteína. Las preproteínas se transportan al aparato de Golgi, donde pueden sufrir su primera escisión. Las fases finales del proceso postranslacional tienen lugar después de reunirse en gránulos neurosecretorios y durante el transporte axonal rápido a los terminales nerviosos para su almacenamiento y liberación. En estas fases finales se lleva a cabo de forma típica una escisión proteolítica limitada con el fin de que se produzcan péptidos más cortos [30]. En la última década, los conocimientos sobre las enzimas proteolíticas que participan en el procesamiento de la preproteína se han incrementado sustancialmente, como se verá más adelante [31].

Además de estas escisiones proteolíticas, pueden tener lugar otro tipo de modificaciones como glicosilación, fosforilación, acetilación del extremo N-terminal, amidación del extremo C-terminal o sulfación del péptido en orden definido, mientras que las proteínas o péptidos se mueven a través del RE, aparato de Golgi y vesículas secretoras, o incluso en su camino a través del axón hasta ser secretadas [32]. Otras modificaciones de la preproteína pueden ser postranscripcionales, pero pretranslacionales. Por ejemplo, la calcitonina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, del inglés *calcitonin gene-related peptide*) parecen derivarse de un único gen que, tras una lectura alternativa en el ARNm, da lugar a dos sustancias diferentes. Todo este proceso es específico del tejido, de tal forma que células tiroideas producen ARNm para la calcitonina, mientras que células hipotalámicas producen ARNm para la CGRP [33].

#### SINAPSIS PEPTIDÉRGICAS: LIBERACIÓN, RECEPTORES Y DEGRADACIÓN

Las sinapsis peptidérgicas generalmente responden al mismo esquema que las sinapsis del resto de neurotransmisores. En

primer lugar se tiene que producir una despolarización de la terminal presináptica seguida de una apertura de canales de  $Ca^{2+}$  voltaje-dependientes que permite la entrada de este ion al interior de la neurona. Estos iones  $Ca^{2+}$  promueven la movilización de las vesículas que contienen al NP para finalmente fusionarse con la membrana plasmática. A continuación se debe producir la liberación del NP. La demostración de esta liberación era crucial para demostrar el papel neurotransmisor de los neuropéptidos. La mayoría de los estudios se llevaron a cabo empleando preparaciones de sinaptosomas y rebanadas de distintas regiones del SNC. En secciones de estriado y globo pálido, al emplear distintos estímulos despolarizantes, se ha provocado la liberación de metencefalina mediante un mecanismo calcio-dependiente [34,35]. Resultados similares se han obtenido en médula espinal con el estudio de la liberación de sustancia P [36] o de metencefalina [37]. Existen numerosos estímulos que son capaces de inducir la liberación de péptidos. Por ejemplo, la liberación de sustancia P, neurocinina A, somatostatina y CGRP se produce en neuronas por acción de la capsaicina, un potente liberador de neurotransmisores de aferentes primarias [38]. La dopamina incrementa la liberación tanto basal como evocada de metencefalina en el estriado [39]. La exposición a luz UV también puede inducir la liberación de NP como la sustancia P en neuronas sensibles [40].

Del mismo modo, también existen otros agentes que inhiben la liberación de NP. La administración de algunos fármacos puede inhibir la liberación de NP de neuronas sensibles a la capsaicina [41].

Sin embargo, los estudios que contribuyeron de un modo más significativo al conocimiento de la liberación de NP fueron los de microdialisis *in vivo*. Se comprobó que existe una liberación tanto basal como inducida por agentes despolarizantes (potasio, veratridina) y por estimulación eléctrica (aunque las frecuencias requeridas son mayores que en el caso de los neurotransmisores clásicos) [42,43]. En algunos casos no se ha podido detectar liberación basal de péptidos debido quizás a que los péptidos no se liberan de forma tónica en situaciones fisiológicas (como lo hace la dopamina), aunque probablemente se trate de un problema de detección [3]. En cualquier caso, la cantidad de NP liberada es mucho menor que la de un neurotransmisor clásico. En este último caso la liberación puede alcanzar hasta un 5-10% de la concentración existente en el tejido, mientras que en el caso de los NP, la cantidad liberada representaría únicamente entre el 0,5-1% [3].

Los péptidos y los transmisores clásicos de pequeño tamaño molecular pueden coexistir y liberarse conjuntamente [44]. En las neuronas adultas la combinación habitual es de un transmisor de pequeño tamaño molecular y uno o más péptidos derivados de una clase de poliproteína. Un ejemplo es la coliberación y cotransmisión de glutamato y dinorfina en el hipocampo, donde el glutamato actúa como neurotransmisor excitatorio y el péptido opioide inhibitorio sobre las células postsinápticas cercanas que poseen receptores para ambos mensajeros químicos. En ocasiones, la liberación conjunta de un neurotransmisor clásico y un neuropéptido supone una acción neuromoduladora de éste sobre el neurotransmisor [45]. El proceso de cotransmisión y otros aspectos relacionados como su empaquetamiento en vesículas se ha estudiado ampliamente en el molusco *Aplysia* debido a la simplicidad de su sistema nervioso [46-49].

Los NP son insolubles en la membrana plasmática; por lo tanto, no pueden atravesarla, y deben ejercer sus efectos inter-

actuando con receptores de la superficie celular [50]. Esta interacción entre el NP y el receptor normalmente da lugar a un cambio en la estructura tridimensional del receptor, fenómeno que origina una cascada de eventos en la célula que se traducirá en una respuesta celular. Sin embargo, la existencia de receptores específicos para NP ha sido incierta durante mucho tiempo, a pesar de los grandes intentos por purificar y clonar tales receptores [51]. En los años setenta se demostró la existencia de numerosos lugares de unión para varios péptidos opioides [51]. En 1987 se aisló un clon de ADNc del receptor de la sustancia K a partir de una genoteca de ADNc bovino [52]. Este primer receptor peptídico clonado pertenecía a la familia de receptores acoplados a proteínas G. Después fueron clonados los receptores de la sustancia P [53,54] y la neurotensina [55], y se comprobó que todos ellos pertenecían a la misma familia. De hecho, más del 80% de los receptores de NP son receptores acoplados a una proteína G. En general, estos receptores contienen un lugar de reconocimiento para el ligando y un lugar de reconocimiento para una proteína G particular. Están constituidos de una cadena única de 400 a 600 residuos de aminoácidos. El terminal amino que contiene lugares para la glucosilación es extracelular, mientras que el terminal carboxilo presenta lugares para la fosforilación por proteincinasas y es intracelular. Además, estructuralmente estos receptores se caracterizan por la existencia de siete tramos de 22-28 residuos hidrófobos separados por segmentos hidrófilos. Estos segmentos transmembranaarios forman haces de hélices estrechamente empaquetados que atraviesan la membrana [56,57].

La unión del neuropéptido a su receptor provoca la activación de una enzima, generalmente una adenilatociclasa, que cicla nucleótidos localizados en la superficie interna de la membrana, concretamente este enzima convierte ATP en AMPc. Este AMPc se combina con una proteincinasa dependiente de adenilatociclasa (PKA). La PKA consta de una subunidad reguladora y otra catalítica. La interacción del AMPc con la subunidad reguladora provoca la liberación de la unidad catalítica, que puede funcionar como una enzima fosforilante. Además de afectar a la membrana y al citoplasma adyacente, la respuesta también puede implicar al genoma de la célula a través de acciones sobre el ADN y así producir efectos a largo plazo sobre el metabolismo celular, el crecimiento y la diferenciación [56]. Otros NP actúan a través de la hidrólisis del fosfatidil inositol 4,5 bifosfato (PIP<sub>2</sub>), que da lugar a la formación de otro grupo de segundos mensajeros como el diacilglicerol y el inositol trifosfato. También existen receptores de NP acoplados a guanilatociclasa [58] o a tirosinacinasas [59].

La identificación de los receptores de NP ha sido de gran importancia, ya que se demuestra así que los NP poseen sus propias dianas celulares y sus propios sistemas de segundos mensajeros, y presumiblemente también su propio papel fisiológico. Aunque en la actualidad se ha clonado al menos un receptor para casi todos los tipos de NP conocidos, el número total de receptores diferentes para cada neuropéptido todavía no se conoce. Así, por ejemplo, han sido clonados cinco receptores para la somatostatina [60] y un número muy similar para el neuropéptido Y [61]. Sin embargo, lo que sí parece claro es que el número de receptores de los NP no sería tan elevado como el descrito para algunos neurotransmisores de los denominados clásicos. En cualquier caso, la multiplicidad de receptores resulta importante para el desarrollo de agonistas y antagonistas que podrían usarse como herramientas farmacológicas [62,63].

Una vez clonados, se procedió a conocer la regulación y la distribución de dichos receptores empleando técnicas de hibridación *in situ* [64]. También se ha descrito la existencia de factores específicos, denominados proteínas modificadoras de la actividad del receptor, que pueden provocar que dos NP diferentes, aunque relacionados, sean capaces de unirse al mismo receptor [65,66], hallazgo que abre un campo importante en el estudio de la plasticidad de los receptores.

Los mecanismos de eliminación de los transmisores de la hendidura sináptica son críticos para la transmisión sináptica. La persistencia del transmisor en el espacio sináptico tras su liberación puede impedir nuevas comunicaciones e incluso puede provocar que la sinapsis acabe siendo refractaria, principalmente debido a la desensibilización del receptor por la exposición continuada al transmisor [50]. Se han descrito tres mecanismos por los cuales el tejido nervioso es capaz de eliminar a los neurotransmisores: la difusión, la degradación enzimática (véase más adelante) y la recaptación, tanto por el terminal presináptico como por las células gliales. Los NP, en general, se eliminan más lentamente que los transmisores de pequeño tamaño molecular. Los mecanismos de eliminación peptídica se reducen únicamente a la difusión y la proteólisis por peptidasas extracelulares [67]. Esta inactivación lenta de los péptidos contribuye a prolongar la duración de sus efectos y provoca que su metabolismo sea más parecido al de las hormonas que al de los neurotransmisores clásicos.

## TIPOS DE NEUROPEPTIDOS

Se han realizado diversas clasificaciones de los NP que atienden a diferentes criterios, como la localización tisular, la estructura y la secuencia de aminoácidos, lo que ha permitido dividir a los NP en familias en ocasiones con funciones similares o incluso solapadas. En la tabla I se muestran los principales neuropéptidos de mamíferos y se incluyen algunos de los recientemente descubiertos.

## PRINCIPALES FUNCIONES DE LOS NEUROPEPTIDOS

El elevado número de NP existentes hace suponer que las funciones en las que intervienen son muy diversas. Por ello, a continuación se citan brevemente sólo algunas de las funciones ejercidas por algunos NP.

### *Nocicepción y analgesia*

Existen abundantes evidencias que ponen de manifiesto que el transmisor sináptico secretado por las fibras aferentes primarias nociceptivas es la sustancia P. Por el contrario, la administración de morfina alivia el dolor y produce euforia especialmente cuando se administra por vía intratecal. De igual modo, la liberación de opioides endógenos ayuda a aliviar el dolor [68].

### *Ingesta de alimentos*

La regulación del peso corporal se mantiene a través de una serie de complejas interacciones que ocurren entre el encéfalo (particularmente el hipotálamo) y la periferia. En condiciones normales, existe un equilibrio dinámico entre NP anabólicos (péptidos orexigénicos) que favorecen la ingesta de alimento, el descenso del gasto energético y facilitan, por tanto, el almacenamiento de grasa, y los catabólicos (péptidos anorexigénicos),

que disminuyen la ingesta de alimentos y aumentan el gasto energético para facilitar así la pérdida de la grasa almacenada [69]. El neuropéptido Y y el sistema POMC han sido extensamente estudiados en relación con el consumo de energía [70-73]. El factor liberador de corticotropina también interviene, al actuar como enlace entre la ingesta de alimento y los factores medioambientales [74]. Los nuevos NP hipocretina/orexinas recientemente localizados en las células del hipotálamo lateral también están relacionados con el control de la ingesta de alimentos [75], así como los opioides [76], el péptido relacionado con la bombesina [77], la colecistocinina [78,79] o la galanina [80]. Incluso se ha considerado la implicación de los NP en el tránsito intestinal [81] y en la secreción de jugos gástricos [82].

#### **Regulación agua/sodio**

Esta regulación se lleva a cabo a través del sistema renina-angiotensina. La angiotensina II es el principal regulador de la secreción de aldosterona, esteroide que provoca la retención de agua. A través del sistema renina-angiotensina-aldosterona, se controla la osmolaridad de la sangre, así como la presión arterial. Este sistema a su vez está regulado por otros NP como la sustancia P o el péptido intestinal vasoactivo [83]. Existen además otros factores que controlan los procesos de osmorregulación entre los que se puede citar la vasopresina, que promueve el movimiento de agua y sodio a través de tejidos epiteliales [84].

#### **Regulación del sistema inmune**

Se ha comprobado que numerosos NP participan en procesos inmunológicos [85,86]. Así, por ejemplo, se ha estudiado la posible relación entre algunos NP como la somatostatina, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, el neuropéptido Y y la sustancia P, y la función de las células T. Se ha observado que los tres primeros NP provocan la adhesión de las células T a componentes de la matriz extracelular, adhesión que está mediada por integrinas. Sin embargo, la sustancia P tiene un efecto contrario [87]. La somatostatina además interviene en el control de otras funciones inmunológicas como la proliferación de linfocitos, la producción de inmunoglobulinas y la liberación de citocinas proinflamatorias como el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) [88].

Recientemente se ha estudiado la interacción entre componentes del sistema nervioso y múltiples células diana en el sistema inmune cutáneo, de modo que determinadas enfermedades cutáneas como la psoriasis tienen un importante componente neurogénico [89]. Se ha observado que NP liberados por fibras nerviosas sensoriales que inervan la piel pueden actuar modulando las funciones de diferentes tipos de células como los queratocitos, las células de Langerhans, los mastocitos y también células infiltradas del sistema inmune. Entre estos NP se ha citado a la sustancia P, neurocinina A, CGRP, péptido intestinal vasoactivo y la somatostatina que, además de ser capaces de modular las funciones de la piel y de las células inmunes, también actúan sobre la proliferación celular, la producción de citocinas y la presentación de antígenos tanto en situaciones fisiológicas como patológicas [90].

Por último, procesos como la inflamación de la piel y la cicatrización de heridas también pueden ser moduladas por sistemas peptidérgicos [90].

#### **Regulación de la reproducción y del comportamiento sexual**

La hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) es el neuropéptido clave que controla la función reproductora en todas las

especies de vertebrados. Concretamente los esteroides ováricos secretados por la maduración de folículos ováricos inducen un patrón pulsátil de liberación de GnRH en la eminencia media que estimula el pico de LH preovulatorio [91]. La oxitocina es otro neuropéptido ampliamente estudiado debido a su implicación en el control de la eyección de leche después del parto. También se ha comprobado que su síntesis es estimulada debido a la dilatación del cérvix durante el parto, e incluso es utilizada clínicamente para la inducción del parto [92].

Por otro lado, muchos otros NP se han implicado en el control central de la conducta sexual. Entre ellos se han destacado el factor liberador de corticotropina, el neuropéptido Y y la colecistocinina, que inhiben el comportamiento sexual, mientras que la sustancia P y el péptido intestinal vasoactivo facilitarían dicha función [93]. El papel de los opioides en la función sexual también ha sido puesto de manifiesto [94].

#### **Regulación del desarrollo**

En general, la mayoría de los NP y neurotransmisores clásicos aparecen pronto en el desarrollo, por lo tanto, parece que las interacciones de neurotransmisores y péptidos en las neuronas durante el desarrollo desempeña un papel indispensable en la ontogenia del SNC, aunque la función de los NP no ha sido totalmente definida [95,96].

#### **Termorregulación**

Existen numerosos trabajos en los que se analizan los efectos de los NP sobre la regulación de la temperatura corporal. Algunos de los NP implicados en el control de la temperatura son el neuropéptido Y, la orexina A, la vasopresina, la bombesina, la neurotensina, la somatostatina, la naloxona, la colecistocinina [97-99] y los péptidos opioides [100,101].

#### **Otras funciones**

Además de las funciones anteriormente citadas, los NP participan en otras muchas funciones no menos importantes, como el control cardiovascular [102-104], la respuesta al estrés [105,106], el aprendizaje y la memoria [107,108], la conducta [109], el control del sueño [110] o la regulación de la glucosa [111], entre otras.

Esta lista de funciones, ya extensa, posiblemente se incrementará en los próximos años debido al creciente número de NP que se descubren y se estudian en la actualidad.

#### **DEGRADACIÓN DE NEUROPEPTIDOS: PEPTIDASAS**

El creciente número de péptidos descubiertos, localizados tanto en el SNC como en tejidos periféricos, ha provocado numerosos estudios destinados a la mejor comprensión de su fisiología. Especial interés han suscitado los mecanismos por los que los NP son inactivados tras su liberación a la hendidura sináptica. Los procesos de inactivación de los NP están relacionados con su función neurotransmisora y neuromoduladora. De hecho, un neuropéptido que ejerza un papel neurotransmisor tendrá una vida corta, mientras que la función neuromoduladora implica un retraso en los mecanismos de degradación para permitir a los péptidos cumplir su función [112].

En general, las enzimas proteolíticas son aquellas que catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos. Existen varios términos que, aunque tuvieron mínimas diferencias de significado



**Tabla 1.** Principales neuropeptidos de mamíferos.

Hipotalámicos	Hormona liberadora de la tirotropina (TRH) Somatostatina (SST) Hormona liberadora de la corticotropina (CRH) Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) Hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) Orexinas A y B (hipocretinas 1 y 2)
Hipofisarios	Vasopresina * Oxitocina * Hormona adrenocorticotropa (ACTH) Hormona estimuladora de melanocitos Prolactina Hormona de crecimiento (GH) Hormona estimulante del folículo (FSH) Hormona luteinizante (LH) Hormona estimulante del tiroides Secretoneurina
Péptidos gastro-intestinales y pancreáticos	Polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) Colecistocinina (CCK) Gastrina Insulina Glucagón Motilina Amilina Péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) Galanina Secretina Neuropeptido Y Polipéptido pancreático Péptido tirosina-tirosina
Péptidos opioides	Metencefalina (Met-Enk) Leu-encefalina (Leu-Enk) Dinorfina $\beta$ -endorfina
Takininas	Sustancia P Neurocinina A Neurocinina B Neuropeptido K
Otros	Angiotensina II Bombesina Bradicinina Péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) Neurotensina Neuropeptido FF Péptido natriurético cerebral
Nuevos	Péptido regulador de la cocaína y anfetaminas Endomorfina 1 y 2 Nociceptina/Orfanina Nocistatin Péptido liberador de prolactina Urocortina Cortistatina Apelina

\*Neuropeptido producido en el hipotálamo pero almacenado en la neurohipófisis.

[113], hoy se utilizan indistintamente junto al de enzimas proteolíticas y son proteasas, proteinasas y peptidasas [114].

De forma habitual, las enzimas proteolíticas se dividieron en exopeptidasas y endopeptidasas. Las primeras hidrolizan los enlaces próximos a los extremos N o C-terminales de la cadena polipeptídica, mientras que las endopeptidasas actuarían sobre enlaces distintos de los extremos de la cadena.

Las endopeptidasas se dividieron sobre la base del metabolismo catalítico en: serinaendopeptidasas, cistinaendopeptidasas, asparticoendopeptidasas y metalopeptidasas.

Las exopeptidasas se clasifican según la especificidad que muestran por un determinado sustrato y se les suele asignar un

nombre convencional que indica el extremo del péptido (grupo  $\alpha$ -amino o  $\alpha$ -carboxilo) frente al cual son activas y el tamaño del fragmento liberado (aminoácido, dipéptido o tripéptido aislado).

Las exopeptidasas que requieren un grupo  $\alpha$ -amino libre se denominan aminopeptidasas, si liberan aminoácidos, y dipeptidil aminopeptidasas y tripeptidil aminopeptidasas si liberan dipéptidos y tripéptidos, respectivamente.

Las exopeptidasas que requieren un grupo carboxilo terminal no sustituido en los péptidos se denominan carboxipeptidasas, si liberan aminoácidos, y dipeptidil carboxipeptidasas si liberan dipéptidos.

Un tercer grupo de exopeptidasas son las denominadas dipeptidasas y tripeptidasas, cuyo principal atributo es su especificidad por sustratos que poseen una determinada distancia (de dos o tres aminoácidos, respectivamente) entre el grupo  $\alpha$ -amino libre y el grupo  $\alpha$ -carboxilo libre. Esto da lugar a confusiones, ya que ciertas dipeptidasas y tripeptidasas parecen afectar a cadenas polipeptídicas mayores [115] y algunas aminopeptidasas pueden utilizar como sustratos dipéptidos y tripéptidos de diversa naturaleza [116,117].

Las omega-peptidasas agrupan a aquellas exopeptidasas capaces de separar residuos terminales cuyo grupo  $\alpha$ -amino o  $\alpha$ -carboxilo no se encuentra libre porque está ciclado (p. ej., piroglutamato aminopeptidasas), sustituido o unido a otros residuos terminales que formen enlace mediante un grupo carboxilo o amino no unido a un carbono  $\alpha$  ( $\gamma$ -glutamato aminopeptidasas).

Los nombres dados a la mayoría de las aminopeptidasas se basan frecuentemente en sus preferencias o requerimientos por un residuo N-terminal característico. De igual modo, los nombres asignados a las carboxipeptidasas que liberan aminoácidos individuales sirven para identificar el residuo carboxiterminal preferido o requerido por la enzima.

A continuación, siguiendo la clasificación de Barret et al [114], se exponen brevemente las características de algunas AP presentes en los organismos de mamíferos.

La actividad específica alanina-aminopeptidasa (AlaAP, AP M) no tiene una función fisiológica totalmente conocida, aunque se la ha relacionado especialmente con el metabolismo de las encefalinas y de otros NP como la sustancia P y la interleucina 8.

La actividad específica arginina-aminopeptidasa (ArgAP, AP B) participa en un amplio espectro de fenómenos fisiológicos que incluyen procesos inflamatorios en los que algunos sustratos potenciales de esta enzima (encefalinas, calidina 10 o somatostatina) pueden desempeñar un papel muy importante.

Estas dos enzimas, AlaAP y ArgAP, participan de forma conjunta en la regulación de la presión arterial ya que llevan a cabo el metabolismo de la angiotensina III (Ang III), uno de los péptidos efectores del sistema renina-angiotensina [118,119].

La actividad específica cistina-aminopeptidasa (CysAP) es una ectoenzima que degrada fundamentalmente vasopresina y también oxitocina, por lo que ha sido denominada oxitocinasa. La oxitocinasa en sangre controla la presión sanguínea materna y del feto mediante la regulación de la concentración de péptidos vasoactivos. También se ha sugerido su participación en el crecimiento fetal ya que actúa en la degradación de la somatostatina.

Las actividades específicas aspartato y glutamato-aminopeptidasas (AspAP y GluAP) se han denominado conjuntamente

como angiotensinasas, debido a que uno de sus sustratos fisiológicos más importantes es la angiotensina II (Ang II), que por la acción de estas enzimas se transforma en Ang III, mediando de esta forma los efectos del sistema renina-angiotensina y, por lo tanto, la homeostasis de la presión sanguínea [120].

La actividad específica piroglutamato-aminopeptidasa (pGluAP) es capaz de liberar residuos pGlu N-terminales de péptidos biológicamente activos fundamentalmente de la TRH.

El estudio del papel funcional de las AP tanto en condiciones fisiológicas como patológicas y en el plano no sólo central, sino también periférico, permite utilizarlas como herramientas para estudiar indirectamente la función de los NP a los cuales regulan, así como para analizar los mecanismos básicos de su propia regulación.

En este sentido, nuestro laboratorio ha llevado a cabo el estudio de diferentes AP en diversas situaciones. Así, ha quedado ampliamente demostrada la implicación de las AP en la regulación de los péptidos del sistema renina-angiotensina tanto en el plano central como periférico [121-123] y en la regulación de la TRH [124]. Del mismo modo, también se ha comprobado la influencia de diferentes factores exógenos sobre la actividad aminopeptidasa, lo que puede implicar una modulación de la actividad de los péptidos susceptibles de ser hidrolizados por dichas enzimas. Así, modificaciones en la composición y el tipo de grasa de la dieta pueden afectar a las distintas AP [125-129].

La administración de etanol a animales de experimentación también provoca cambios en las actividades aminopeptidasas cerebrales [130-132]. Finalmente, el efecto de los esteroides sexuales sobre la actividad AP, y por lo tanto sobre sus posibles sustratos endógenos, ha sido extensamente estudiada y se ha confirmado la hipótesis de que dicha actividad se ve modificada por el estado hormonal del individuo, y por lo tanto, podría poner de manifiesto diferencias sexuales en el metabolismo y degradación de diferentes sustancias neuromoduladoras así como en el metabolismo proteico en general [133-135].

## IMPLICACIONES CLÍNICAS

Además de la comprensión de la fisiología y del papel funcional de los NP, las investigaciones recientes se están dirigiendo ha-

cia la producción de fármacos que podrían tratar una amplia variedad de enfermedades. Así, los NP han provocado un enorme interés en la industria farmacéutica en las últimas décadas. Por ejemplo, la sustancia P está implicada en la regulación del dolor, asma, psoriasis [136] y acné [137], así como en enfermedades inflamatorias intestinales y a nivel central en la migraña, esquizofrenia, depresión y ansiedad [136]. En este sentido, estudios recientes han concluido que el antagonista de la sustancia P denominado MK 869 es eficaz en tratamientos antidepresivos [136]. De igual forma, tratamientos sistémicos o locales con somatostatina o análogos de ésta, son beneficiosos en modelos *in vivo* de enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas. En muchos de estos modelos la somatostatina parece antagonizar los efectos de la sustancia P [138]. Por otro lado, existen muchos NP en diferentes áreas cerebrales implicados en la regulación de la ingesta de alimentos. El conocimiento de todos ellos contribuirá al desarrollo de nuevos tratamientos de la obesidad [139]. También se está estudiando la posible eficacia de análogos de la CCK en tratamientos de obesidad [140].

Recientemente se ha descubierto un sistema denominado hipocreatina/orexina, que parece estar implicado en la regulación del sueño. Este hallazgo amplía la comprensión de los mecanismos reguladores del sueño y permite estudiar posibles aplicaciones terapéuticas para trastornos del mismo [141]. Por último, se están empleando agonistas de LHRH en tratamientos de cáncer de próstata [142] y mama [143].

Éstos son sólo algunos ejemplos, pero existen muchos otros en los que son aplicables los recientes datos aportados del estudio de NP. De hecho, hoy en día resultan útiles los conocimientos de los NP, de sus análogos y antagonistas, en el tratamiento de algunas enfermedades que afectan a pacientes de la tercera edad como la enfermedad de Alzheimer, demencia, disfunciones cognitivas, depresión y la enfermedad de Parkinson [144].

Por último, y a modo de conclusión, cabe decir que en vista del elevado número de NP descritos, las investigaciones recientes se dirigen hacia la búsqueda de tratamientos para las posibles enfermedades relacionadas con los NP; en este sentido, las AP, enzimas encargadas del metabolismo de estas sustancias neurotransmisoras-neuromoduladoras podrían actuar como posibles dianas farmacológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Joels M. Modulatory actions of steroid hormones and neuropeptides on electrical activity in brain. *Eur J Pharmacol* 2000; 29: 207-16.
- Hökfelt T, Mutt V. Neuropeptides. In Adelman G, ed. *The encyclopedia of Neuroscience*. Boston: Bir Khäuser; 1987. p. 1-8.
- Ceballos M. Péptidos neurotransmisores. In Andreu D, Rivas L, eds. *Péptidos en Biología y Biomedicina*. Madrid: CSIC; 1997. p. 463-78.
- Kombian SB, Mougnot D, Pittman QJ. Dendritically released peptides act as retrograde modulators of afferent excitation in the supraoptic nucleus *in vitro*. *Neuron* 1997; 19: 903-12.
- Whittaker VP. What is Dale's principle? In Chan-Palay V, Palay SL, eds. *Coexistence of Neuroactive substances in neurons*. New York: Wiley; 1984. p. 137-40.
- Acher R, Chauvet J, Chauvet MT. Man and the chimera. In Ivell R, Russell JA, eds. *Oxytocin: cellular and molecular approaches in medicine and research*. New York: Ed. Plenum Press; 1995. p. 615-27.
- Fuxe K, Li XM, Bjelke B, Hedlund PB, Biagini G, Agnafi LF. Possible mechanisms for the powerful actions of neuropeptides. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 739: 42-59.
- Björklund A, Hökfelt T, Kuhar MJ. Neuropeptides in the CNS. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*. Vol. 9. New York: Elsevier; 1990.
- O'Connor WT, Tanganelli S, Ungerstedt U, Fuxe K. The effects of neurotensin on GABA and acetylcholine release in the dorsal striatum of the rat: a *in vivo* microdialysis study. *Brain Res* 1992; 573: 209-16.
- Maneuf YP, Mitchell JJ, Crossman AR, Brotchie JM. On the role of enkephalin cotransmission in the GABAergic striatal efferents to the globus pallidus. *Exp Neurol* 1994; 125: 65-71.
- Strand FL. Distribution and localization of neuropeptides. In Strand FL, ed. *Neuropeptides: regulators of physiological processes*. London: Bradford; 1999. p. 65-76.
- Blázquez E, Álvarez E, Navarro M, Rencero I, Rodríguez-Fonseca F, Chowen JA, et al. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide as a novel neuropeptide. *Mol Neurobiol* 1998; 18: 157-73.
- Lazure C, Seidah NG, Pelaprat D, Chretien M. Proteases and post-translational processing of prohormones: a review. *Can J Biochem Cell Biol* 1983; 61: 501-15.
- Nakanishi S, Inoue A, Kita T, Nakamura M, Chung ACY. Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin- $\beta$ -lipotropin precursor. *Nature* 1979; 278: 423-7.
- Schwartz JP, Costa E. Hybridization approaches to the study of neuropeptides. *Annu Rev Neurosci* 1986; 9: 277-304.
- Seidah NG, Chretien M. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides. *Brain Res* 1999; 848: 45-62.
- Strand FL. Biosynthesis, processing, secretion and inactivation of neuropeptides. In Strand FL, ed. *Neuropeptides: regulators of physiological processes*. London: Bradford; 1999. p. 43-64.

18. Douglass J, Civelli O, Herbert E. Polyprotein gene expression: generation of diversity of neuroendocrine peptides. *Ann Rev Biochem* 1984; 53: 665-715.
19. Nakayama K, Watanabe T, Nakagawa T, Kim WS, Nagahama M, Hosaka M, et al. Consensus sequence for precursor processing at mono-arginyl sites. Evidence for the involvement of a kex2-like endoprotease in precursor cleavages at both dibasic and mono-arginyl sites. *J Biol Chem* 1992; 267: 16335-40.
20. Lechan RM, Wu P, Jackson IM. Immunocytochemical distribution in rat brain of putative peptides derived from thyrotropin-releasing hormone prohormone. *Endocrinology* 1987; 121: 1879-91.
21. De Lecea L, Sutcliffe JG. The hypocretins/orexins: novel hypothalamic neuropeptides involved in different physiological systems. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 473-80.
22. Hungs M, Mignot E. Hypocretin/orexin, sleep and narcolepsy. *BioEssays* 2001; 23: 397-408.
23. Nawa H, Hirose T, Takashima H, Inayama S, Nakanishi S. Nucleotide sequences of cloned cDNAs for two types of bovine brain substance P precursor. *Nature* 1983; 306: 32-6.
24. Kotani H, Hoshimaru M, Nawa H, Nakanishi S. Structure and gene organization of bovine neuromedin K precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 7074-8.
25. Strand FL. The neuropeptide concept and the evolution of neuropeptides. In Strand FL, ed. *Neuropeptides: regulators of physiological processes*. London: Bradford; 1999. p. 3-17.
26. Zakarian S, Smyth D. Distribution of active and inactive forms of endorphins in rat pituitary and brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76: 5972-6.
27. Benjannet S, Seidah NG, Routhier R, Chretien M. A novel human pituitary peptide containing the gamma-MSH sequence. *Nature* 1980; 285: 415-6.
28. Tremblay Y, Tretjakoff I, Peterson A, Antakly T, Zhang CX, Drovin J. Pituitary-specific expression and glucocorticoid regulation of a pro-melanocortin fusion gene in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 8890-4.
29. Brodsky JL. Translocation of proteins across the endoplasmic reticulum membrane. *Int Rev Cytol* 1998; 178: 277-328.
30. Muller L, Lindberg I. The cell biology of the prohormone convertases PC1 and PC2. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1999; 63: 69-108.
31. Bennett HPJ. Peptide biosynthesis and secretion: recent developments and unresolved issues. In Kalier M, Barnes P, Kunkel G, eds. *Neuropeptides in the respiratory tract*. New York: Marcel-Dekker; 1994. p. 125-42.
32. Perone MJ, Castro MG. Prohormone and proneuropeptide synthesis and secretion. *Histol Histopathol* 1997; 12: 1179-88.
33. Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature* 1982; 298: 240-4.
34. Iversen LL, Iversen SD, Bloom FE, Vargo T, Guillemin R. Release of enkephalin from rat globus pallidus in vitro. *Nature* 1978; 16: 679-81.
35. Osborne H, Herz A. K<sup>+</sup>-evoked release of met-enkephalin from rat striatum in vitro: effect of putative neurotransmitters and morphine. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1980; 310: 203-9.
36. Akagi H, Otsuka M, Yanagisawa M. Identification by high-performance liquid chromatography of immunoreactive substance P released from isolated rat spinal cord. *Neurosci Lett* 1980; 20: 259-63.
37. Cesselin F, Bourgoin S, Artaud F, Hamon M. Basic and regulatory mechanisms of in vitro release of Met-enkephalin from the dorsal zone of the rat spinal cord. *J Neurochem* 1984; 43: 763-74.
38. Filippelli A, Falciani M, Piucci B, D'Amico M, D'Agostino B, Filippelli W, et al. Endothelin-1 affects capsaicin-evoked release of neuropeptides from rat vas deferens. *Eur J Pharmacol* 1999; 364: 183-91.
39. Pasinetti G, Govoni S, Di Giovine S, Spano PF, Trabucchi M. Dopamine enhances Met-enkephalin efflux from rat striatal slices. *Brain Res* 1984; 293: 364-7.
40. Scholzen TE, Brzoska T, Kalden DH, O'Reilly F, Armstrong CA, Luger TA, et al. Effect of ultraviolet light on the release of neuropeptides and neuroendocrine hormones in the skin: mediators of photo-dermatitis and cutaneous inflammation. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999; 4: 55-60.
41. Ceccherelli F, Gagliardi G, Matterazzo G, Visentin R, Giron G. The role of manual acupuncture and morphine administration on the modulation of capsaicin-induced edema in rat paw. A blind controlled study. *Acupunct Electrother Res* 1996; 21: 7-14.
42. Bayon A, Shoemaker WJ, Lugo L, Azad R, Ling N, Drucker-Colin RR, et al. In vivo release of enkephalin from the globus pallidus. *Neurosci Lett* 1981; 24: 65-70.
43. Maidment NT, Siddall BJ, Rudolph VR, Erdelyi E, Evans CJ. Dual determination of extracellular cholecystokinin and neurotensin fragments in rat forebrain: microdialysis combined with a sequential multiple antigen radioimmunoassay. *Neuroscience* 1991; 45: 81-93.
44. Karhunen T, Vilim FS, Alexeeva V, Weiss KR, Church PJ. Targeting of peptidergic vesicles in cotransmitting terminals. *J Neurosci* 2001; 21: 127.
45. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Neurociencia y conducta*. Madrid: Prentice Hall; 1998.
46. Sossin WS, Kreiner T, Barinaga M, Chilling J, Scheller RH. A dense core vesicle protein is restricted to the cortex of granules in the exocrine atrial gland of *Aplysia californica*. *J Biol Chem* 1989; 5: 16933-40.
47. Weiss KR, Brezina V, Cropper EC, Heierhorst J, Hooper SL, Probst WC, et al. Physiology and biochemistry of peptidergic cotransmission in *Aplysia*. *J Physiol Paris* 1993; 87: 141-51.
48. Vilim FS, Cropper EC, Price DA, Kupfermann I, Weiss KR. Release of peptide cotransmitters in *Aplysia*: regulation and functional implications. *J Neurosci* 1996; 16: 8105-14.
49. Vilim FS, Price DA, Lesser W, Kupfermann I, Weiss KR. Costorage and corelease of modulatory peptide cotransmitters with partially antagonistic actions on the accessory radula closer muscle of *Aplysia californica*. *J Neurosci* 1996; 16: 8092-104.
50. Dobrescu G. Intercellular communication. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1998; 102: 17-24.
51. Hokfelt T, Broberger C, Xu ZQ, Sergeev V, Ubink R, Diez M. Neuropeptides, an overview. *Neuropharmacology* 2000; 39: 1337-56.
52. Masu Y, Nakayama K, Tamaki H, Harada Y, Kuno M, Nakanishi S. cDNA cloning of bovine substance-P receptor through oocyte expression system. *Nature* 1987; 329: 836-8.
53. Yokota Y, Sasai Y, Tanaka K, Fujiwara T, Tsuchida K, Shigemoto R, et al. Molecular characterization of a functional cDNA for rat substance P receptor. *J Biol Chem* 1989; 264: 17649-52.
54. Hershey AD, Krause JE. Molecular characterization of a functional cDNA encoding the rat substance P receptor. *Science* 1990; 247: 958-62.
55. Tanaka K, Masu M, Nakanishi S. Structure and functional expression of the cloned rat neurotensin receptor. *Neuron* 1990; 4: 847-54.
56. Hadley ME. *Mecanismos generales de la acción hormonal*. In Stumpf J, ed. *Endocrinología*. Madrid: Prentice Hall; 1997. p. 66-96.
57. Schwartz TWUG, Schambye HT, Hjorth SA. Molecular mechanism of action of non-peptide ligands for peptide receptors. *Current Pharm Design* 1995; 1: 325-42.
58. Van den Akker F. Structural insights into the ligand binding domains of membrane bound guanylyl cyclases and natriuretic peptide receptors. *J Mol Biol* 2001; 311: 923-37.
59. Ventura C, Maioli M. Protein kinase C control of gene expression. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2001; 11: 343-67.
60. Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M, Epelbaum J, Feniuk W, Humphrey PPA, et al. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 86-8.
61. Larhammar D, Blomqvist AG, Yee F, Jazin E, Yoo H, Wahlestedt C. Cloning and functional expression of a human neuropeptide Y/peptide YY receptor of the Y1 type. *J Biol Chem* 1992; 267: 10935-8.
62. Lam FF. Pharmacologic characterization of receptor types mediating coronary vasodilator actions of sensory neuropeptides in the pignea pig. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35: 646-52.
63. Costa SK, Esquisatto LC, Camargo E, Gambero A, Brain SD, De Nucci G, et al. Comparative effects of *Phoneutria nigriventer* spider venom and capsaicin on the rat paw oedema. *Life Sci* 2001; 69: 1573-85.
64. Elde R, Arvidsson U, Riedl M, Vulchanova L, Lee JH, Dado R, et al. Distribution of neuropeptide receptors. New views of peptidergic neurotransmission made possible by antibodies to opioid receptors. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 757: 390-404.
65. Massot O, Rousselle JC, Fillion MP, Grimaldi B, Cloez-Tayarani I, Fugelli A, et al. 5-hydroxytryptamine-moduline, a new endogenous cerebral peptide, controls the serotonergic activity via its specific interaction with 5-hydroxytryptamine 1B/1D receptors. *Mol Pharmacol* 1996; 50: 752-62.
66. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, et al. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* 1998; 393: 333-9.
67. Akopian TN, Arzumantian AM, Agadzhanian AG, Arutiunian AA. Sinaptosomal degradation of neuropeptides. *Bioorg Khim* 1991; 17: 1589-604.
68. Satoh M. Molecular neuropharmacology of nociceptive transmission and opioid receptors. *Yakugaku Zasshi* 2000; 120: 1291-307.
69. Jeanrenaud B, Rohner-Jeanrenaud F. Effects of neuropeptides and leptin on nutrient partitioning: dysregulations in obesity. *Annu Rev Med* 2001; 52: 339-51.
70. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Sibutramine alters the central mechanisms regulating the defended body weight in diet induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R2222-8.



71. Raposinho PD, Castillo E, d'Alleva V, Broqua P, Pralong FP, Aubert ML. Chronic blockade of the melanocortin 4 receptor subtype leads to obesity independently of neuropeptide Y action, with no adverse effects on the gonadotropic and somatotrophic axes. *Endocrinology* 2000; 141: 4419-27.
72. Bi S, Ladenheim EE, Schwartz GJ, Moran TH. A role for NPY overexpression in the dorsomedial hypothalamus in hyperphagia and obesity of OLETF rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R254-60.
73. Korner J, Savantaus E, Chua SC, Leibel RL, Wardlaw SL. Leptin regulation of *agrp* and *npv* mRNA in the rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 2001; 11: 959-66.
74. Beck B. Neuropeptides and obesity. *Nutrition* 2000; 16: 916-23.
75. Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep? Orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Neurosci* 2001; 24: 429-58.
76. Glass MJ, Billington CJ, Levine AS. Opioids and food intake: distributed functional neural pathways? *Neuropeptides* 1999; 33: 360-8.
77. Merani Z, McIntosh J, Anisman H. Role of bombesin-related peptides in the control of food intake. *Neuropeptides* 1999; 33: 376-86.
78. Ritter RC, Covasa M, Matson CA. Cholecystokinin: proofs and prospects for involvement in control of food intake and body weight. *Neuropeptides* 1999; 33: 387-99.
79. Degen L, Matzinger D, Drewe J, Beglinger C. The effect of cholecystokinin in controlling appetite and food intake in human. *Peptides* 2001; 22: 1265-9.
80. Bergonzelli GE, Pralong FP, Glauser M, Cavadas C, Grouzmann E, Gaillard RC. Interplay between Galanin and Leptin in the hypothalamic control of feeding via corticotropin-releasing hormone and neuropeptide Y. *Diabetes* 2001; 50: 2666-72.
81. Bueno L, Fioramonti J. Neurohormonal control of intestinal transit. *Reprod Nutr Dev* 1994; 34: 513-25.
82. Morley JE, Levine AS, Silvis SE. Central regulation of gastric acid secretion. The role of neuropeptides. *Life Sci* 1982; 31: 399-410.
83. Ganong WF, Porter JP, Bahnson TD, Said SI. Peptides and neurotransmitters that affects renin secretion. *J Hypertens* 1984; Suppl 1: 75-82.
84. Nicco C, Wittner M, DiStefano A, Jounier S, Bankir L, Bouby N. Chronic exposure to vasopressin upregulates *EnaC* and sodium transport in the rat renal collecting duct and lung. *Hypertension* 2001; 38: 1143-9.
85. Salzet M, Tasiemski M. Involvement of pro-enkephalin-derived peptides in immunity. *Dev Comp Immunol* 2001; 25: 177-85.
86. Ganea D, Delgado M. Inhibitory neuropeptide receptors on macrophages. *Microbes Infect* 2001; 3: 141-7.
87. Levite M. Nerve-driven immunity. The direct effects of neurotransmitters on T-cell function. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 917: 307-21.
88. Ten Bokum AM, Hofland LJ, van Hagen PM. Somatostatin and somatostatin receptors in the immune system: a review. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11: 161-76.
89. Raychaudhuri SP, Farber EM. Neuroimmunologic aspects of psoriasis. *Cutis* 2000; 66: 357-62.
90. Scholzen T, Armstrong CA, Bunnnett NW, Luger TA, Olerud JE, Ansel JC. Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. *Exp Dermatol* 1998; 7: 81-96.
91. Bakker J, Baum MJ. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21: 220-62.
92. Kelly AJ, Tan B. Intravenous oxytocin alone for cervical ripening and induction of labour (Cochrane Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 3: CD003246.
93. Argiolas A. Neuropeptides and sexual behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 1999; 23: 1127-42.
94. Meston CM, Frohlich PF. The neurobiology of sexual function. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57: 1012-30.
95. Yew DT, Chan WY, Luo CB, Zheng DR, Yu MC. Neurotransmitters and neuropeptides in the developing human central nervous system. A review. *Biol Signals Recept* 1999; 8: 149-59.
96. Sladek CD, Kappor JR. Neurotransmitter/neuropeptide interactions in the regulation of neurohypophysial hormone release. *Academic Press Exp Neurol* 2001; 171: 200-9.
97. Ruwe WD, Veale WL, Cooper KE. Peptide neurohormones: their role in thermoregulation and fever. *Can J Biochem Cell Biol* 1983; 61: 579-93.
98. Neuropeptide Y and orexin A in rats. *Acta Physiol Hung* 1999; 86: 219-22.
99. Szelenyi Z. Cholecystokinin and thermoregulation. A minireview. *Peptides* 2001; 22: 1245-50.
100. Clark WG. Influence of opioids on central thermoregulatory mechanisms. *Pharmacol Biochem Behav* 1979; 10: 609-13.
101. Mickley GA, Cobb BL. Thermal tolerance reduces hyperthermia-induced disruption of working memory: a role for endogenous opiates? *Physiol Behav* 1998; 63: 855-65.
102. Ganong WF. Neuropeptides in cardiovascular control. *J Hypertens* 1984; (Suppl 2): 515-23.
103. Ertl G, Hu K. Anti-ischemic potential of drugs related to the renin-angiotensin system. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; Suppl 1: S11-20.
104. Sweerts BW, Jarrott B, Lawrence AJ. The effect of acute and chronic restraint on the central expression of prepro-neuropeptide Y mRNA in normotensive and hypertensive rats. *J Neuroendocrinol* 2001; 13: 608-17.
105. Samson WK, Taylor MM. Hypocretin/orexin suppresses corticotroph responsiveness in vitro. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R1140-5.
106. Pedersen WA, Wan R, Mattson MP. Impact of aging on stress-responsive neuroendocrine systems. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 963-83.
107. Zager EL, Black PM. Neuropeptides in human memory and learning processes. *Neurosurgery* 1985; 17: 355-69.
108. Rubakhim SS, Page JS, Monroe BR, Sweedler JV. Analysis of cellular release using capillary electrophoresis and matrix assisted laser desorption/ionization time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis* 2001; 22: 3752-8.
109. de Wied D, van Ree JM. Neuropeptides: animal behaviour and human psychopathology. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 1989; 238: 323-31.
110. Eggermann E, Serafin M, Bayer L, Machard D, Saint-Mieux B, Jones BE, et al. Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurons. *Neuroscience* 2001; 108: 177-81.
111. Filipsson K, Kvist-Reimer M, Ahren B. The neuropeptide pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and islet function. *Diabetes* 2001; 50: 1959-69.
112. Checler F. Neuropeptide-degrading peptidases. In: Parvez SH, Naoi M, Nagatsu T, Parvez S, eds. *Methods in Neuropeptide Research*. Amsterdam: Elsevier; 1993. p. 375-418.
113. McDonald JK, Barret AJ. *Mammalian proteases: a glossary and bibliography*. Vol. 2. London: Academic Press; 1986.
114. Barret AJ, Rawlings ND, Woessner JF. *Handbook of proteolytic enzymes*. London: Academic Press; 1998.
115. Coffey JW, de Duve C. Digestive activity of lysosomes. *J Biol Chem* 1968; 243: 3255-63.
116. Felgenhauer K, Glenner GG. The enzymatic hydrolysis of aminoacid  $\beta$ -naphthylamidases. II. Partial purification and properties of a peptide-bound cobalt-activated rat kidney aminopeptidase. *J Histochem Cytochem* 1966; 14: 401-13.
117. Kania RK, Santiago NA, Gray GM. Intestinal surface amino-oligopeptidases. II. Substrate kinetics and topography of the active site. *J Biol Chem* 1977; 252: 4929-34.
118. Szczepanska R, Grupp LA. Bestatin, an aminopeptidase B inhibitor, selectively reduces alcohol intake in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 434-7.
119. Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Rupérez M, Esteban V, Suzuki Y, Mezzano S, et al. Role of the renin-angiotensin system in vascular diseases: expanding the field. *Hypertension* 2001; 38: 1382-7.
120. Wolf G, Wenzel U, Assmann KJ, Stahl RA. Renal expression of aminopeptidase A in rats with two-kidney, one-clip hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1935-42.
121. Martínez JM, Prieto I, Ramírez JM, de Gasparo M, Hermoso F, Arias JM, et al. Sex differences and age-related changes in human serum aminopeptidase A activity. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 53-61.
122. Ramírez-Expósito MJ, Martínez-Martos JM, Prieto I, García MJ, Ramírez M. Influencia del ácido oleico sobre la actividad angiotensinasa de astrogliia cortical de rata. *Arch Neurosci (Mex)* 1999; 4: 170-4.
123. Ramírez-Expósito MJ, Martínez-Martos JM, Mayas MD, García MJ, Prieto I, Arechaga G, et al. Oleate, linoleate and cholesterol differently modify aspartyl- and glutamyl- aminopeptidase activities in primary cultures of rat astrocytes. *Comp Biochem and Physiol* 2001; 128: 115-20.
124. Martínez JM, Ramírez MJ, Prieto I, Petzelt C, Hermoso F, Alba F, et al. Human serum pyroglutamyl- $\beta$ -naphthylamide hydrolyzing activity during development and aging. *Arch Gerontol Geriatr* 1999; 28: 31-6.
125. Martínez JM, Ramírez MJ, Prieto I, Alba F, Ramírez M. Influence of dietary supplementation with olive oil on pyroglutamyl- $\beta$ -naphthylamide hydrolyzing activity in serum and different tissues of mice. *Folia Biol (Praha)* 1998; 44: 213-6.
126. Ramírez MJ, Martínez JM, Prieto I, Alba F, Ramírez M. Dietary supplementation with olive oil influences aminopeptidases activities in mice. *Nutrition Res* 1998; 18: 99-107.

127. Martínez-Martos JM, Ramírez-Expósito MJ, Prieto I, Mayas MD, Ramírez M. Influencia del ácido oleico sobre la actividad aminopeptidasa de astrocitos de rata. *Rev Neurol* 1999; 29: 97-101.
128. Ramírez-Expósito MJ, García MJ, Mayas MD, Ramírez M, Martínez-Martos JM. El colesterol de la dieta modifica la actividad piroglutamil aminopeptidasa de la corteza frontal del ratón. Diferencias sexuales. *Rev Neurol* 2001; 32: 904-7.
129. Ramírez-Expósito MJ, Martínez-Martos JM, Prieto I, Alba F, Ramírez M. Angiotensinase activity in mice fed an olive oil-supplemented diet. *Peptides* 2001; 22: 945-52.
130. Mayas MD, Martínez-Martos JM, Ramírez-Expósito MJ, García MJ, Tsuboyama GK, Prieto I, et al. Estudio *in vitro* del efecto del etanol sobre la actividad piroglutamato aminopeptidasa en sinaptosomas de ratón en condiciones basales y despolarizantes. *Rev Neurol* 2000; 30: 128-31.
131. Mayas MD, Martínez-Martos JM, Ramírez-Expósito MJ, García MJ, Prieto I, Arechaga G, et al. Influencia del alcohol etílico sobre la actividad aminopeptidasa A de sinaptosomas corticales de ratón. *Arch Neurosci (Mex)* 2000; 5: 120-6.
132. Mayas MD, Ramírez-Expósito MJ, García MJ, Ramírez M, Martínez-Martos JM. Influencia del alcohol sobre las aminopeptidasas cerebrales. Un estudio *in vitro*. *Rev Neurol* 2001; 32: 1031-40.
133. Martínez JM, Ramírez MJ, Prieto I, Alba F, Ramírez M. Sex differences and *in vitro* effects of steroids on serum aminopeptidase activities. *Peptides* 1998; 19: 1637-40.
134. Martínez-Martos JM, Ramírez-Expósito MJ, Iribar-Ibabe C, Peinado Herrerros JM. Las neurotoxinas naturales como herramientas farmacológicas para el estudio del sistema nervioso central. *Rev Neurol* 1998; 26: 584-91.
135. García-López MJ, Martínez-Martos JM, Mayas MD, Ramírez M, Ramírez-Expósito MJ. Influencia del estradiol sobre la actividad angiotensinasa de la corteza frontal. *Arch Neurosci* 2002. (In press).
136. Argyropoulos SV, Nutt DJ. Substance P antagonists: novel agents in the treatment of depression. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 1871-5.
137. Toyoda M, Morohashi M. Pathogenesis of acne. *Med Electron Microsc* 2001; 34: 29-40.
138. Jen-Bokum AM, Hofland LJ, van-Hagen PM. Somatostatin and somatostatin receptors in the immune system: a review. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11: 161-76.
139. Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep? Orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Neurosci* 2001; 24: 429-58.
140. Degen L, Matzinger D, Drewe J, Beglinger C. The effect of cholecystokinin in controlling appetite and food intake in human. *Peptides* 2001; 22: 1265-9.
141. Salin-Pascual RJ. The role of the hypothalamic neuropeptides hypocretin/orexin in the sleep-wake cycle. *Isr Med Assoc J* 2001; 3: 144-6.
142. Tsukamoto S, Akaza H. Management of a hormone dependent cancer with endocrine therapy. Prostate cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2001; 28: 917-26.
143. Sono H, Kurebayashi J. Endocrine therapy for advanced or recurrent breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2001; 28: 909-16.
144. Rehman MV, Masson EA. Neuroendocrinology of ageing. *Age Ageing* 2001; 30: 279-87.

#### FISIOLOGÍA DE LOS NEUROPEPTIDOS

**Resumen.** Objetivos. En la presente revisión se pretenden analizar las características generales de los neuropeptidos de los mamíferos. Desarrollo. Los neuropeptidos son sustancias distribuidas de forma ubicua tanto en el sistema nervioso como en la periferia. Se sintetizan en la neurona a partir de prepropeptidos de gran tamaño que se escinden y se modifican hasta formar el neuropeptido maduro. Los neuropeptidos pueden ejercer funciones como neurotransmisores, pero también se han descrito como neuromoduladores o neurohormonas. En la neurona se almacenan en vesículas donde coexisten con neurotransmisores clásicos y, a veces, con otros péptidos. Una vez liberados, se unirá a receptores específicos para ejercer su acción en la célula diana. La mayoría de estos receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a una proteína G. Finalmente, las peptidasas son las enzimas encargadas de su degradación. Conclusiones. En los últimos años, el número de neuropeptidos se ha incrementado considerablemente y además son cada vez mejor conocidas las funciones en las que se ven implicados. En base a estos datos, las investigaciones recientes se están dirigiendo hacia la búsqueda de tratamientos para patologías asociadas con alteraciones de los neuropeptidos. [REV NEUROL 2002; 35: 784-93]

**Palabras clave.** Neurohormona. Neuropeptido. Neurotransmisor. Peptidasa.

#### FISIOLOGIA DOS NEUROPEPTIDOS

**Resumo.** Objectivos. Na presente revisão pretende-se analisar as características gerais dos neuropeptidos dos mamíferos. Desenvolvimento. Os neuropeptidos são substâncias distribuídas tanto no sistema nervoso como na periferia. São sintetizados no neurónio a partir de pré-propeptidos de grandes dimensões que são divididos e modificados até formarem o neuropeptido maduro. Os neuropeptidos podem exercer funções como neurotransmisores mas foram também descritos como neuromoduladores ou neurohormonas. No neurónio armazenam-se em vesículas, onde coexistem com neurotransmisores clássicos e, por vezes, com outros péptidos. Uma vez libertados, unem-se a receptores específicos para exercerem a sua acção na célula alvo. A maioria destes receptores pertencem à família de receptores acoplados a uma proteína G. Finalmente, as peptidasas são as enzimas encarregadas da sua degradação. Conclusões. Nos últimos anos, o número de neuropeptidos aumentou consideravelmente e além, disso são cada vez melhor conhecidas as funções em que se vêm envolvidos. Com base nestes dados, as investigações recentes estão a dirigir-se para a busca de tratamentos para patologias associadas a alterações dos neuropeptidos. [REV NEUROL 2002; 35: 784-93]

**Palavras chave.** Neuro-hormona. Neuropeptido. Neurotransmissor. Peptidase.