

Variación estacional de péptidos opioides en el cerebro de la rata albina

Gilberto Matamoros-Trejo*
Miguel Asai Camacho*

Summary

During the last 20 years there has been wide research on the physiological role of the endogenous opioid system (EOS) in different organisms. Its wide extension through the central and peripheral nervous system, as well as on one of its stereospecific receptors, have allowed us to suggest that the EOS contributes to keep the cellular homeostasis. However, up to this date the seasonal-induced changes in the EOS are unknown. The aim of this article is to study the changes in the endogenous opioid concentrations through the one year seasons of in the albino rat brain model. For this purpose a group of 10 male Wistar rats (250-300 g) were sacrificed the 10 th day of each month. Their brains were removed, and the amygdala of the temporal lobe and the striatum were dissected as fast as possible. Both structures were homogenized, centrifuged and purified. The concentration of 4 different peptides (i.e: Met-enkephalin, Leu-enkephalin, Heptapeptide and Octapeptide) were determinate in both structures by radioimmunoassay (RIA). The results showed that there were specific seasonal-induced changes in the endogenous opioid levels trough the year of each peptide and in both neuro-anatomic structures analyzed. Except Met-enkephalin, the smallest concentration of the another 3 peptides were observed during January, November and December. The statistically significant decrease in the endogenous opioid concentration in winter may suggest that the presynaptic release of each of these peptides is larger in this season. During winter, the wild rodents (i.e. *Microtus mexicanus*, *Reithrodontomys megallotis*, and *Peromyscus maniculatus*), have less amount of food available than during the rest of the year, which produces a change in the mating and breeding strategies, during which, vasopressin, oxytocin and prolactin secretion is stimulated by the endogenous opioids, as it is observed that while there is an increase in the Met-enkephalin concentration there is a decrease in the heptapeptide and in the octapeptide. From the biochemical point of view, these results suggest that both, the heptapeptide and the octapeptide, are the Met-enkephalin biosynthetic precursors. Although we have observed three kinds of wild rodents, we do not have enough data in relation to their opioid concentrations, in order to establish a correlation between behavior and neurochemical processes, which make the results of these paper difficult to interpret. However, it is important to mention that the artificially selected animals, such as the Wistar rats, which are widely used in biomedical research and have their complete biological cycle in the animal house, keep their physiological relations directly governed by the influence of seasonality and are independent from the control applied in the animal house.

Resumen

Desde hace más de 20 años, se ha estudiado intensamente el significado fisiológico de los péptidos opioides en el organismo. Su extensa distribución en el sistema nervioso cen-

tral y periférico, así como la de sus receptores estereoespecíficos, han permitido sugerir que los opioides contribuyen a mantener la homeostasis celular. El precursor de los péptidos opioides, es una proteína de 248 aminoácidos denominada proencefalina A, la cual se almacena en los gránulos de secreción producidos por el aparato de Golgi y sufre cambios postraduccionales en su viaje hacia las terminales sinápticas. De la molécula del precursor se originan 4 copias de Met-enkefalina, una copia de Leu-enkefalina, una copia del heptapéptido (Met-enkefalina-Arg⁶-Phe⁷), y una copia de octapéptido (ME-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸), los cuales se almacenan en las vesículas sinápticas para ser liberados y ejercer su función. Desafortunadamente hasta el momento son desconocidos los cambios que la estacionalidad puede ocasionar sobre la bioquímica del sistema endógeno opioide (SEO). En el presente trabajo, se estudiaron los posibles cambios en la concentración de opioides en el cuerpo estriado y en la amígdala del lóbulo temporal de la rata albina a lo largo de un ciclo estacional.

Un grupo de 10 ratas macho de la cepa Wistar (250-300 g), fueron sacrificadas el día 10 de cada mes. Su cerebro fue removido, el cuerpo estriado y la amígdala fueron disecados con rapidez. Ambas estructuras fueron homogeneizadas, centrifugadas y purificadas. El contenido cerebral de 4 péptidos opioides, la Met-enkefalina, la Leu-enkefalina, la hepta y el octapéptido fue determinado con la técnica de radioinmunoensayo. Los resultados indican que la estacionalidad modifica los niveles de opioides a lo largo del año, de manera específica para cada péptido y estructura analizada. Con excepción de la Met-enkefalina, los otros 3 péptidos analizados presentaron su menor concentración en los meses de noviembre, diciembre y enero, comparados con los 9 meses restantes. La disminución significativa de los opioides en el invierno, puede indicar que la liberación presináptica de los mismos sea mayor en este periodo. Es durante este periodo que los roedores silvestres como *Microtus mexicanus*, *Reithrodontomys megallotis* y *Peromyscus maniculatus*, tienen la menor disponibilidad de alimento durante el año, lo que ocasiona cambios en las estrategias de la reproducción y el alumbramiento, proceso en el cual, los opioides estimulan la secreción de hormonas como la vasopresina, la oxitocina y la prolactina. Por otro lado, la Met-enkefalina tiene un comportamiento bifásico, durante los meses de enero y mayo presenta concentraciones muy altas, para reducirse drásticamente en los meses subsiguientes. Los resultados permiten sugerir que tanto el heptapéptido como el octapéptido son precursores biosintéticos de la Met-enkefalina, toda vez que los valores de este último aumentan mientras que los de sus precursores putativos (hepta y octapéptido) se reducen.

La falta de información que permita establecer relaciones entre las diferentes conductas de los roedores en su medio ambiente natural con los correlatos bioquímicos de los animales en cautiverio hacen por el momento difícil establecer el significado fisiológico de los cambios registrados en el presente trabajo. No obstante que la rata albina (usada en los estudios de investigación biomédica) cumple con su ciclo biológico en los bioterios, es capaz de mantener relaciones fisiológicas directamente gobernadas por la estacionalidad, independientemente del control al cual se encuentran sometidas en los bioterios.

* Laboratorio de Análisis Químicos. Instituto Mexicano de Psiquiatría, Calz. México-Xochimilco #101. Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370. México, D.F.

Los resultados encontrados en el presente trabajo nos permite concluir dos aspectos: 1) La concentración de péptidos opioides se modifica selectivamente a lo largo de las estaciones del año y 2) los animales artificialmente seleccionados conservan los procesos fisiológicos gobernados por la estacionalidad.

Introducción

Desde el descubrimiento de las encefalinas hace 20 años (13), se ha estudiado intensamente la fisiología del sistema endógeno opioide (SEO). Los péptidos opioides han sido relacionados con múltiples procesos fisiológicos, como la analgesia, la reproducción, el crecimiento, la elección del alimento, los cambios hormonales y la madurez sexual (21). Debido a su extensa distribución en el sistema nervioso central y periférico, así como la de sus receptores esteroespecíficos, se ha propuesto que estas biomoléculas contribuyen a mantener la homeostasis celular (2, 3). La proencefalina A es una proteína de 248 aminoácidos y es el precursor biosintético de los péptidos opioides. Este precursor se sintetiza en el ribosoma y se almacena en los gránulos de secreción producidos por el aparato de Golgi, en donde sufre cambios postraduccionales en su viaje a las terminales nerviosas. De este precursor (3), se derivan cuatro copias de Met-encefalina, una copia de Leu-encefalina, una copia del heptapéptido (Met-encefalina-Arg⁶-Phe⁷) y una copia del octapéptido (Met-encefalina-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸), las cuales se almacenan en las vesículas sinápticas para ser liberadas y ejercer su efecto fisiológico.

El medio ambiente ejerce una fuerte y constante presión de selección en los organismos, la cual induce una respuesta fisiológica, la que a su vez, se ve afectada por factores bióticos y abióticos. Dentro de estos últimos, se encuentra la estacionalidad, la cual ocasiona cambios en la ritmicidad funcional de los organismos (19). Los ritmos biológicos han sido estudiados desde hace 300 años (28) y se pueden clasificar de acuerdo a su periodo: ultradianos (menores a 24 horas), circadianos (24 horas), infradianos (mayores a 24 horas) y los ritmos estacionales o circanuales (un año).

Los péptidos opioides participan en procesos celulares, sujetos a ritmos biológicos. En invertebrados como el caracol de jardín *Helix aspersa*, la concentración de Met-encefalina (ME) y de Leu-encefalina (LE), se modifica durante el año (11). En vertebrados como los venados, se ha reportado que la concentración cerebral de β -endorfina responde a los cambios estacionales, los cuales se han relacionado con el desarrollo de algunas características de dimorfismo sexual y madurez reproductiva (6). En mamíferos domésticos, como el carnero, se encontró que el contenido plasmático de β -endorfina se modifica durante el año. Durante la primavera y principios del verano, la cantidad de β -endorfina es muy baja, durante el otoño la concentración de este péptido alcanza valores 20 veces mayores a las encontradas en el inicio del año. Los cambios en la concentración plasmática de β -endorfina han sido propuestos como un mecanismo regulador en la reproducción de los carneros (7).

Durante un ciclo de 24 horas, nuestro grupo de trabajo ha reportado, cambios selectivos en la concen-

tración tisular de encefalinas en el cerebro de la rata (cepa Wistar), en donde se destaca que los cambios ocurridos en el contenido de opioides, puede ser un factor importante en la respuesta epileptogénica (4). También reportamos, que en condiciones naturales los roedores silvestres *Microtus mexicanus*, *Reithrodontomys megallotis* y *Peromyscus maniculatus*, presentan variaciones en la elección o preferencia del alimento, la cual está influenciada por la época reproductiva y la disponibilidad del alimento a lo largo del año (20).

La rata albina es un mamífero de origen euroasiático, que ha sido seleccionado de manera artificial para utilizarse como modelo experimental en la investigación biomédica. Si bien, en los bioterios modernos sus condiciones de vida, como el albergue, el suministro de alimento, el agua y los factores físicos así como la temperatura y la humedad están controlados, consideramos que la rata albina puede conservar relaciones fisiológicas directamente gobernadas por la estacionalidad, las cuales se pudieron adquirir a través de millones de años de evolución y que al encontrarse almacenada en su genoma, se expresan independiente al control externo de sus condiciones de vida.

Debido a la naturaleza de los protocolos de investigación básica (realizados indistintamente a lo largo de un año), la mayor parte de la información sobre la fisiología y fisiopatología de los opioides, proviene principalmente de modelos experimentales realizados en animales, en particular con la rata albina. Sin embargo, los cambios bioquímicos que la estacionalidad puede ocasionar sobre el SEO en los animales artificialmente seleccionados no se conocen, en particular en el cuerpo estriado, relacionado con la locomoción y los procesos cognoscitivos, así como en la amígdala del lóbulo temporal, estructura representativa del sistema límbico y estrechamente asociada con el control endócrino. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue el de conocer la concentración tisular de la Met-encefalina (ME), la Leu-encefalina (LE), el heptapéptido (HE), y el octapéptido (OC), en la amígdala del lóbulo temporal y en el cuerpo estriado de la rata albina durante un ciclo estacional.

Material y métodos

Se emplearon 120 ratas albinas, machos, de la cepa Wistar (200-250 g). Los animales se mantuvieron en condiciones de luz y oscuridad controladas (ciclo de 12-12 hrs), la fase de oscuridad comenzó a las 18:00 hrs, la temperatura fue constante 23 ± 1 °C y con suministro de agua y alimento *ad libitum*.

Las ratas se sacrificaron por decapitación (un grupo de 10 animales el día 10 de cada mes), el cerebro fue removido con rapidez y colocado en solución salina al 0.9 % a 4 °C. La disección de la amígdala del lóbulo temporal y del cuerpo estriado se realizó con la técnica descrita por Engel y Glowinsky respectivamente (9,10). Para evitar la degradación de opioides por la acción de endopeptidasas, las estructuras se hirvieron en un baño de incubación durante 15 min en presencia de 2 ml de HC1 0.1 N. Las muestras se enfriaron

en hielo y se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la posterior purificación y cuantificación de opioides.

Las estructuras se homogeneizaron y centrifugaron a $50.000 \times g$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante una hora. El sobrenadante se purificó por medio de la técnica de cromatografía de adsorción. Las muestras se añadieron a columnas de vidrio ($8 \times 0.7\text{ cm}$) empacadas con Amberlita XAD-2 a una velocidad de flujo de 0.5 ml/min y se procesaron con un lavado inicial de 20 ml de $\text{HC1 } 0.1\text{ N}$, 40 ml de agua y se diluyeron con 20 ml de metanol absoluto. Las muestras se evaporaron a sequedad y se resuspendieron en 2 ml de agua. La recuperación de los péptidos opioides fue mayor al 95% usando como marcador radioactivo $^3\text{H-Met-encefalina}$. Para su cuantificación, las muestras se ensayaron por triplicado con la técnica de radioinmunoensayo, con antisueros obtenidos previamente en nuestro laboratorio (21,25). El cuadro 1, muestra la reactividad cruzada para cada uno de los antisueros utilizados. A medida que el porcentaje se reduce, es un índice de el grado de especificidad que tiene el anticuerpo por su antígeno. Los resultados se expresan como inmunoreactividad (IR) pmol/mg de proteína. La cuantificación de proteínas se realizó con la técnica de Lowry (18), con albúmina sérica bovina como proteína patrón.

Estadística

Los datos obtenidos para cada péptido fueron analizados mediante el análisis de varianza de una vía (meses del año) y las diferencias entre los grupos fueron obtenidas con un análisis de rangos múltiples para detectar homogeneidad de grupos, cuadro 2. En ésta, se representa a los meses, con líneas verticales la concentración de los péptidos en las diferentes estructuras que no difieren significativamente, dejando fuera de ella a los grupos que muestran concentraciones diferentes a dicho bloque (cambios significativos).

Resultados

La concentración de IR-ME presentó a lo largo del año cambios significativos en las estructuras analiza-

Cuadro 1
Reactividad cruzada para los antisueros met-encefalina, leu-encefalina, heptapéptido y octapéptido

Péptido	IR-MET	IR-LE	IR-HE	IR-OC
Met(o)	100.00	<0.01	<0.01	<0.01
Met-Encef	2.90	3.83	<0.01	<0.01
Leu-Encef	0.01	100.00	<0.01	<0.01
Met-Enc-Arg	0.76	0.53	<0.01	<0.01
Leu-Arg-Arg	<0.01	4.33	<0.01	<0.01
Me-Arg-Phe	<0.01	0.37	100.00	<0.01
Me-Arg-Gly-Leu	<0.01	<0.01	<0.01	100.00
Dinorfina (1-8)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Alfa-Endorfina	<0.01	<0.01	<0.01	-----
Beta-Endorfina	<0.01	<0.01	<0.01	-----
Gama-Endorfina	<0.01	<0.01	<0.01	-----

Cuadro 2
Representación de la homogeneidad de grupos

Amígdala			
IR-ME	IR-LE	IR-HE	IR-OC
Feb	Ago	Dic	Dic
Ago	Dic	Nov	Feb
Sep	Jul	Feb	Nov
Mar	Sep	Ene	Ene
Dic	Mar	May	May
Jul	Jun	Jul	Mar
Jun	Oct	Mar	Jul
Oct	Feb	Abr	Abr
Nov	Abr	Ago	Jun
Abr	May	Sep	Oct
May	Ene	Nov	Ago
Ene	Nov	Jun	Sep
Amígdala			
IR-ME	IR-LE	IR-HE	IR-OC
Dic	Dic	Feb	Feb
Feb	Ago	Dic	Dic
Ago	Feb	Ene	Nov
Sep	Sep	May	Ene
Oct	Ene	Nov	Sep
Nov	Mar	Mar	Oct
Jul	Jul	Abr	Ago
Mar	Oct	Jun	May
Jun	Jun	Jul	Mar
Abr	Abr	Ago	Jul
Ene	May	Oct	Jun
May	Nov	Sep	Abr

Análisis de rangos múltiples.

das (fig. 1). Durante los primeros 6 meses del año, la concentración de IR-ME en el cuerpo estriado fue mayor a los 250 pmol/mg , excepto el mes de febrero en donde la concentración del péptido se redujo hasta 50 pmol/mg , durante la primavera (mes de mayo) el contenido aumentó sustancialmente por arriba de los 1300 pmol/mg . En los meses de julio a diciembre los valores descendieron entre los 250 pmol/mg , pero por arriba de 50 pmol/mg . En la amígdala encontramos un pico de máxima concentración durante el mes de enero (1200 pmol/mg), el cual se redujo un 90% durante el siguiente mes (30 pmol/mg). Durante el resto del año, la cantidad de IR-ME presentó cambios principalmente durante la primavera en contraste con los datos obtenidos durante el verano y el otoño.

En el caso de la Leucina-encefalina, su concentración en el cuerpo estriado fue mayor durante los meses de abril a julio. En la amígdala, la concentración del péptido osciló entre los $25\text{-}75\text{ pmol/mg}$ para los meses de enero a octubre. Es necesario destacar que en el mes de noviembre, tanto en la amígdala como en el cuerpo estriado, el contenido de IR-LE alcanzó valores que rebasaron los 250 pmol/mg (300% de aumento) y al mes siguiente al inicio del invierno (diciem-

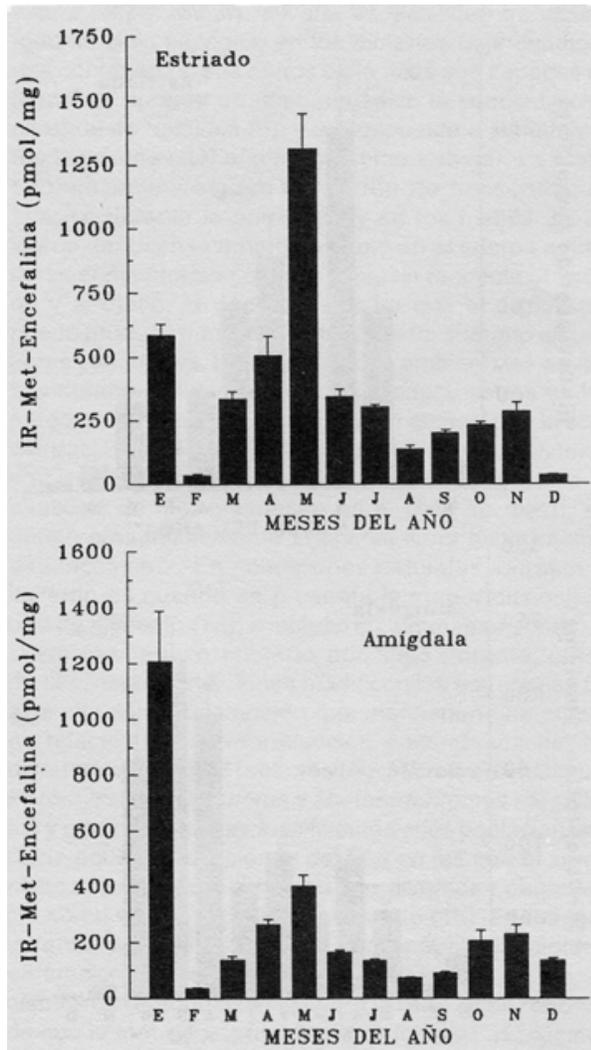


Figura 1. Concentración de IR-Met-enkefalina en la amígdala y cuerpo estriado de la rata albina durante un ciclo estacional. Los resultados se expresan como inmunoreactividad de la Met-enkefalina en pmol/mg de proteína. Cada valor es el promedio de 10 estructuras \pm E.S.M.

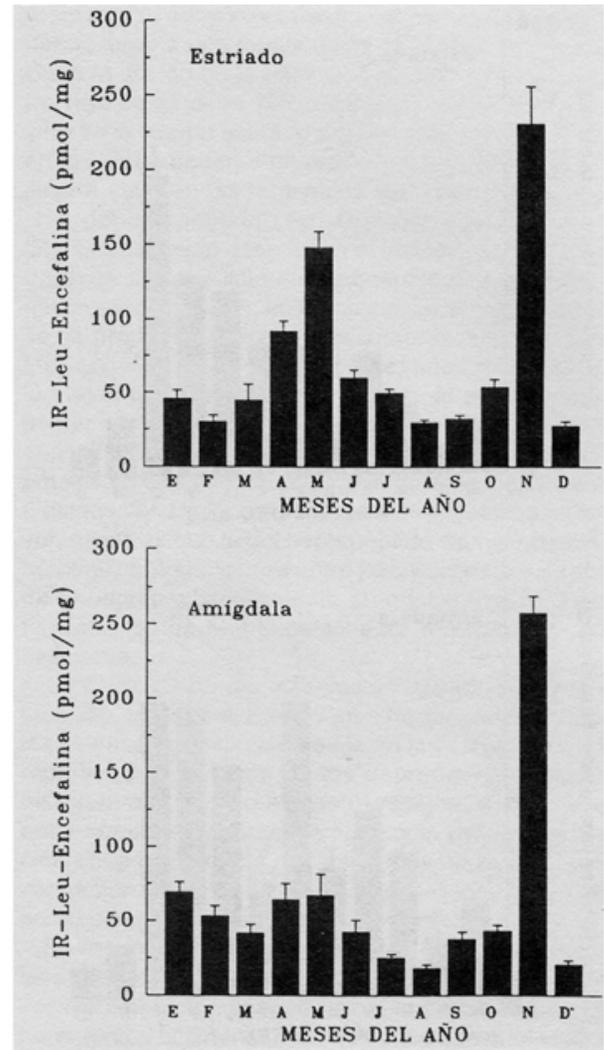


Figura 2. Concentración de IR-Leu-enkefalina en la amígdala y cuerpo estriado de la rata albina durante un ciclo estacional. Los resultados se expresan como inmunoreactividad de la Leu-enkefalina en pmol/mg de proteína. Cada valor es el promedio de 10 estructuras \pm E.S.M.

bre), los valores descendieron nuevamente por debajo de los 50 pmol/mg (fig. 2). Para el heptapéptido, su principal tendencia, tanto en el cuerpo estriado como en la amígdala, fue la de comenzar a incrementar su contenido tisular durante la primavera, hasta alcanzar su mayor concentración en el verano y principios del otoño (junio a octubre). Sin embargo, en ambas estructuras la cantidad del péptido se redujo significativamente durante los meses de noviembre, diciembre y enero (fig. 3).

Durante los meses de marzo a julio, el contenido del octapéptido en el cuerpo estriado alcanzó su mayor concentración, para descender gradualmente entre los meses de agosto y enero.

Para la amígdala el comportamiento fue contrario, durante el periodo marzo a julio la concentración del octapéptido fue menor comparada con los meses de agosto a octubre. En forma semejante al comportamiento encontrado para el heptapéptido y la Leu-enkefalina, durante los meses de noviembre a febrero, el contenido

do tisular se redujo en un 70 % en ambas estructuras (fig. 4). De acuerdo a los datos de homogeneidad de grupos presentados en el cuadro 2, se puede observar que tanto para la amígdala como para el cuerpo estriado, la concentración de los 4 péptidos fue la menor durante los meses del invierno (diciembre a febrero). Por el contrario el contenido de Met y Leu-enkefalina fue mayor principalmente durante la primavera (abril y mayo), para el hepta y octapéptido, su mayor concentración la encontramos al término de la primavera y durante el verano.

Discusión

Los datos obtenidos en el presente trabajo, muestran que los cambios estacionales, modifican la concentración tisular de 4 péptidos opioides. Los cambios encontrados son específicos para cada péptido, estructura y época del año analizada.

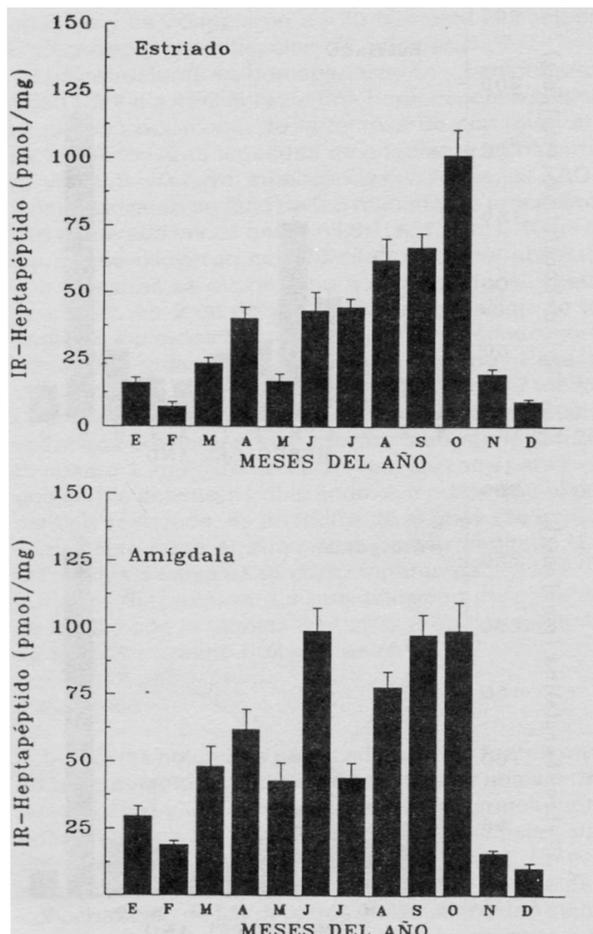


Figura 3. Concentración de IR-heptapéptido en la amígdala y en el cuerpo estriado de la rata albina durante un ciclo estacional. Los resultados se expresan como inmunoreactividad del heptapéptido en pmol/mg de proteína. Cada valor es el promedio de 10 estructuras \pm E.S.M.

Las alteraciones que la estacionalidad produce sobre los procesos bioquímicos encefalérgicos podrían ser discutidos a partir de 2 conceptos: 1) Un reloj biológico es un sistema orgánico capaz de generar un orden temporal en las actividades del organismo, lo cual implica la capacidad del sistema de presentar variaciones con un periodo regular (1), así como la capacidad de utilizar esas variaciones como una referencia temporal interna; 2) si consideramos que el medio ambiente, así como la potencialidad que tienen los animales de manifestar variaciones fisiológicas contenidas en su información genética, van a estar presentes en el entorno que rodea a un organismo, es posible sugerir que los animales en cautiverio, como la rata albina, son capaces de presentar variaciones estacionales bien definidas, que de acuerdo con los resultados encontrados en el presente trabajo, involucran a los péptidos opioides. Desde el punto de vista evolutivo, el doctor Colin Pittendrigh (23), ha planteado el problema de la naturaleza exógena contra la endógena

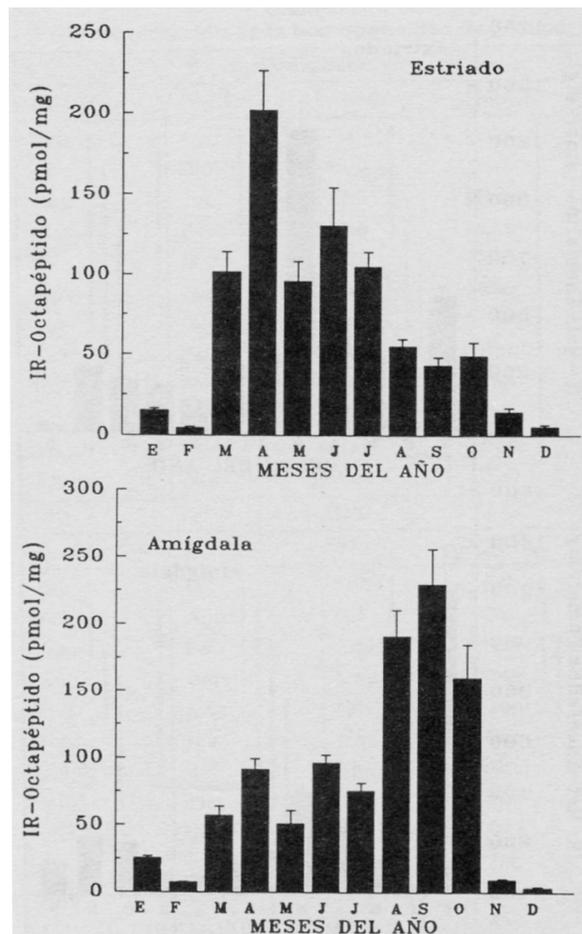


Figura 4. Concentración de IR-octapéptido en la amígdala y cuerpo estriado de la rata albina durante un ciclo estacional. Los resultados se expresan como inmunoreactividad del octapéptido en pmol/mg de proteína. Cada valor es el promedio de 10 estructuras \pm E.S.M.

de la ritmicidad biológica, y considera que existe diferencia entre el orden y la organización temporal. En el orden se considera la ausencia del azar, mientras que la organización se refiere a fenómenos dependientes del manejo de la información por parte del organismo. Los seres vivos desde sus orígenes han estado sometidos al orden temporal impuesto por el ambiente y conforme éstos han evolucionado, dicho orden se ha asimilado en la información genética dando lugar a una organización temporal propia del organismo. De esta forma las semejanzas entre los ciclos ambientales y los biológicos se explican debido a que inicialmente los últimos dependieron de los primeros, mientras que las diferencias entre ellos se deben a características que cada organismo tiene para adaptarse a su medio ambiente particular (15). Por tanto, es posible afirmar que los organismos en su ambiente natural, en cautiverio o seleccionados artificialmente, son capaces de generar por sí mismos la ritmicidad observada en sus parámetros fisiológicos (1). No obstante que la rata

albina (cepa Wistar), es una especie que transcurre todo su ciclo biológico en los bioterios bajo condiciones controladas, sus ritmos biológicos son capaces de modificar durante un ritmo circádico la concentración cerebral de opioides (3), y su respuesta a las diferentes estaciones del año (el presente trabajo). La Met y Leu-encefalina siguen un patrón de concentración bifásico durante la primavera y en los meses del invierno, tanto en la amígdala como en el cuerpo estriado su concentración es más alta con respecto al verano y al otoño, lo que nos sugiere que el organismo puede producir más péptido para poder liberarlo en mayores cantidades. Las condiciones ambientales adversas durante el invierno pueden producir estrés en los roedores, fenómeno que produce un aumento en la concentración de encefalinas en estructuras del sistema límbico (2), mientras que en el estriado aumenta la cantidad de Met-encefalina en el mes de mayo, en donde presumiblemente el animal tiene mayor actividad locomotriz. En condiciones naturales, durante el invierno es cuando se presenta la menor disponibilidad de alimento (19), e incluso en algunas regiones, el suelo permanece cubierto por hielo durante varios meses, estas condiciones modifican las estrategias de alimentación y locomoción que mantienen una cercana relación con la reproducción y alumbramiento de algunas especies de roedores (eg. *Microtus mexicanus*, *Peromyscus maniculatus* y *Reithrodontomys megalotis*) y que involucran incluso fluctuaciones poblacionales hacia aquellas estaciones del año en las que el suministro del alimento y agua son más diversos y abundantes como en la primavera y el verano (15). En los mamíferos, se ha involucrado a los péptidos opioides en funciones endócrinas relacionadas con los mecanismos de reproducción (27). En la rata, se ha reportado que la Met-encefalina aumenta los niveles plasmáticos de prolactina (8), y promueve la secreción de vasopresina y oxitocina (12,25).

Por otro lado, el aspecto bioquímico arroja datos interesantes; el heptapéptido (Tyr¹-Gly²-Gly³-Phe⁴-Met⁵-Arg⁶-Phe⁷) se encuentra presente en el cuerpo estriado de la rata en concentraciones que exceden a los de la Leu-encefalina (24), y es ocho veces más potente que la Met-encefalina como agente analgésico *in vivo*, pero 70 veces menos potente que la morfina cuando se administra en ratones (14).

Se ha considerado a este péptido como un precursor biosintético de la Met-encefalina (Tyr¹-Gly²-Gly³-Phe⁴-Met⁵), por acción de la enzima convertidora de angiotensina (EC 3.4.15.1). Esta enzima produce el

rompimiento entre los aminoácidos metionina y arginina dando lugar a una nueva copia de Met-encefalina (5). Dada la acción de la enzima, nos permite sugerir que los niveles altos de Met-encefalina durante la primavera en el cuerpo estriado y en la amígdala, pero bajos en el HE, se deben a un proceso de recambio que se lleva a cabo en las terminales nerviosas. La distribución del octapéptido (Tyr¹-Gly²-Gly³-Phe⁴-Met⁵-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸) ha sido descrita en el sistema nervioso central bajo criterios inmunohistoquímicos y de radioinmunoensayo (16,17), en forma similar al heptapéptido, se ha propuesto como un precursor biosintético de la Met-encefalina (5). Si ambos péptidos dan origen a la Met-encefalina, la concentración de este último se puede mantener aumentada durante varios meses del año. Nuestros resultados nos permiten apoyar esta hipótesis ya que encontramos que durante los primeros 6 meses del año la cantidad de Met-encefalina es mayor, mientras que la del heptapéptido disminuye. El fenómeno contrario ocurre entre julio y diciembre en donde el heptapéptido aumenta su concentración, mientras que los de Met-encefalina se reducen significativamente.

La fisiología de los opioides en especies silvestres incluyen cambios o alteraciones hormonales, los cuales se encuentran involucrados en los mecanismos de reproducción, evasión de los depredadores, ingesta de agua, elección de alimento o cuidados parentales entre otros. Por lo tanto, es necesario estudiar la relación entre la conducta del animal silvestre con la concentración y la liberación de péptidos opioides tanto en ambientes similares como diferentes.

En resumen, en el presente trabajo mostramos que la rata albina, especie utilizada extensamente en la investigación biomédica, conserva la capacidad de generar ritmos biológicos bien definidos que modifican el contenido de péptidos opioides durante el año, principalmente en estructuras relacionadas con el control endócrino y cognoscitivo. Finalmente, es necesario señalar que al realizar ensayos con biomoléculas o evaluar procesos fisiológicos en esta especie de roedores es importante considerar la época del año en la cual se llevan a cabo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la MC Lilian Mayagoitia por su valiosa ayuda en el análisis estadístico. A la señora Carmen Navarro y a los señores Gabriel Linares y Pablo Agustín por la ayuda técnica para la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

1. AGUILAR R: Teorías básicas de los ritmos biológicos. *Psiquis*, 2(6):121-132, 1993.
2. AKIL H, WATSON S.J, YOUNG E. LEWIS ME, KHACRATURIAN K, WALDER JM: Endogenous opioids: Biology and function. *Ann Rev Neurosci*, 7:223-256, 1984.
3. ASAI M, GUTIERREZ R: Neurobiología de los péptidos opioides. *Salud Mental*, 17(2):30-43, 1994.
4. ASAI M, VINDROLA O, ZUBIETA M, TALAVERA E, MASSARINI A: Diurnal variations of IR-Met-enkephalin in the rat brain of pentylene-tetrazol-kindled rats. *Brain Res*, 442:101-107, 1988.
5. BENUCK MJ, BERG J, MARKS N: Membrane-bound enzymes and their role in processing of the dynorphins and the proenkephalin Octapeptide Met-enkephalin-Arg-Gly-Leu. *Neurochem Res*, 9:733-749, 1984.
6. BUBENIK GA, SMITH JH, FLYNN A: Plasma levels of β -endorphin in white-tailed deer: Seasonal variation and the effect of thyroxine, GNRH, dexamethasone and ACTH administration. *Comp Biochem Physiol*, 90(A):309-313, 1988.
7. EBLING FJ, LINCOLN GA: β -endorphin secretion in rams related to season and photoperiod. *Endocrinology*, 120:809-818, 1987.

8. EIDEN L: The enkephalin-containing cell: strategies for polypeptides synthesis and secretion throughout the neuroendocrine system. *Cell Neurobiol*, 7(4):339-352, 1987.
9. ENGEL J Jr, SHARPLESS NS: Long-lasting depletion of dopamine in rat amygdala induced by kindling stimulation. *Brain Res*, 136:381-386, 1977.
10. GLOWINSKY I, IVERSEN LL: Regional studies of catecholamines in rat brain. *J Neurochem*, 13:655-669, 1966.
11. GUTIERREZ R, ASAI M: IR-Met and IR-Leu-enkephalin content in the periesophageal ganglia of *Helix aspersa*. Seasonal variations. *Comp Biochem Physiol*, 100(C):609-613, 1991.
12. HOLT V, HAARMANN I, SEIZINGER B, HERZ A: Levels of dynorphin (1-13) immunoreactivity in rat neurointermediate pituitaries are concomitantly altered with those of leucine enkephalin and vasopressin in response to various endocrine manipulations. *Neuroendocrinol*, 33:333-339, 1981.
13. HUGHES J, KOSTERLITZ HW, FOTHERGILL LH, MORGAN BA, MORRIS H: Identification of two related pentapeptides from the bovine brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, 255:577-578, 1975.
14. INTURRISI CE, UMANS JG, WOLFF D, STERNA A, LEWIS RV, STEIN S, UDENFRIEND S: Analgesic activity of the naturally occurring heptapeptide (Met)⁵-Arg⁶-Phe⁷. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77:5512-5514, 1980.
15. KREBS CH. Ecología. *Estudio de la Distribución y Abundancia*. Ed. Harla. México, 1978.
16. LINDBERG I, YANG HYT: Distribution of met⁵-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸ immunoreactive peptides in rat brain: presence of multiple molecular forms. *Brain Res*, 299:73-78, 1984.
17. LINDBERG I, WHITE L: Reptilian enkephalins: implications for the evolution of proenkephalin. *Arch Biochem Biophys*, 245: 1-7, 1986.
18. LOWRY H, NIRA J, ROSEBROUGH A, FARR L, RANDALL RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193:263-275, 1951.
19. MATAMOROS G: Estudio sobre la variación de la dieta de una comunidad de roedores del Ex-Lago de Texcoco. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, 1988.
20. MATAMOROS-TREJO G, CERVANTES F: Alimentos de los roedores *Microtus mexicanus*, *Reithrodontomys megalotis* y *Peromyscus maniculatus* del Ex-Lago de Texcoco, México. *Anales. Inst Biol Univ Nac Autón México*, Ser. Zool. 63(1):135-144, 1992.
21. OLSON GA, OLSON RD, KASTIN A: Endogenous opiates: 1993. *Peptides*, 15(8):1513-1556, 1994.
22. PELLICER F, ASAI M, LEON-OLEA M, SANCHEZ-ALVAREZ M: In vitro release of IR-Met- and IR-Leu-enkephalins in whole periesophageal ganglia of *Helix aspersa*. *Comp Biochem Physiol*, 104(C):323-325, 1993.
23. PITTENDRIGH CS: Temporal organization: Reflections of a Darwinian Clock-Watcher. *Ann Rev Physiol*, 55:17-54, 1993.
24. ROSSIER J, AUDIGIER Y, LING N, CROS J, UDENFRIEND S: Met-enkephalin-Arg-Phe, present in high amounts in brain of rat, cattle and man, is an opioid agonist. *Nature*, 288:88-90, 1980.
25. SUMMY-LONG J, MILLER P, ROSELLA-DAMPMAN M, HARTMAN D, EMMET E: A functional role for opioids in the differential secretion of vasopressin and oxytocin. *Brain Res*, 309:363-366, 1984.
26. VINDROLA O, BRIONES R, ASAI M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Amygdaloid kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. *Neurosci Lett*, 21:39-43, 1981.
27. WHITE JD, STEWART KD, KRAUSE JE, McKELVY JF: Biochemistry of peptide-secreting neurons. *Physiol Rev*, 65:553-605, 1985.
28. WOLLNIK F: Physiology and regulation of biological rhythms in laboratory animals: an overview. *Lab Anim*, 23(2):107-125, 1989.

**Respuestas a la sección
AVANCES DE LA PSIQUIATRÍA
Autoevaluación**

1. c
2. c
3. d
4. c
5. e
6. d
7. b
8. a
9. d
10. b
11. a
12. c
13. b
14. c
15. b
16. c
17. d
18. b
19. a
20. b