

EL RECEPTOR ORL-1 Y SU PÉPTIDO ENDÓGENO, LA NOCICEPTINA/ORFANINA FQ. NUEVOS MIEMBROS DE LA FAMILIA DE LOS OPIOIDES

Samuel Mucio-Ramírez,* Carolina Miller-Pérez,* Eduardo Sánchez-Islas,* Martha León-Olea*

SUMMARY

Clonation of opioid receptors δ , μ and κ was followed by identification and sequencing of another member of the opioid family: the opioid receptor like-1 (ORL-1). Although they share similarities with receptors μ , δ and κ , endogenous opioid ligands like β -endorphin, dynorphin A and enkephalins do not have great affinity for this receptor. After the discovery of ORL-1, its endogenous peptide was isolated. This peptide presents a nanomolar affinity with its receptor. Two different research groups reported this peptide: Meunier et al. (1995) called it nociceptin, and Reinscheid et al. (1995) called it orphanin FQ. ORL-1 and nociceptin/orphanin FQ (N/OFQ) have a wide anatomical distribution in the nervous system, mainly in the olfactory nucleus, cerebral cortex, hippocampus, septal region, basal ganglia, thalamus, hypothalamus, pons, medulla, cerebral peduncle, spinal cord and retina. This anatomical distribution evidences its role in different cerebral functions. Administration of N/OFQ may have hyperalgesic, allodinic, antioioid or even analgesic effects. Basically, the effects are both related with dose and administration route. Besides, it may produce many behavioral effects which especially modify locomotion, exploratory behavior, motivation, anxiety, memory, food intake and neuroendocrine modulation. N/OFQ is derived from a protein precursor of high molecular weight called prepronociceptin (PPNOC), which contains only one copy of the amino acid sequence of N/OFQ. The gene of PPNOC is conserved in five mammals (rat, mouse, porcine, bovine and human species). PPNOC is predominantly expressed in hypothalamus, midbrain, lateral lemniscus, superior olive, trigeminal spinal nucleus of the brainstem and spinal cord. Given the recent discovery of this peptide and its receptor, and the fact that it has a wide localization within the CNS, it is obvious that the study of its physiology and pharmacology is not totally finished. Two evidences—the presence of N/OFQ in species that belong to low levels of phylogenetic scale like mollusk *Helix aspersa*, *H. pomatia* y *Cepaea nemoralis* and the pronociceptive effect, similar to the hyperalgesia in mammals—

support the idea that this new opioid system has an early phylogenetic origin and a functional continuity during the course of evolution.

In this paper we review the literature concerning this new receptor/peptide opioid system ORL-1 and its endogenous peptide nociceptin/orphanin FQ.

Key words: Opioid peptides, opioid receptors, nociceptin, orphanin FQ, ORL-1.

RESUMEN

A la clonación de los receptores opioides δ , μ y κ siguió la identificación y secuenciación de otro miembro de la familia opioide, el receptor ORL-1 (por sus siglas en inglés, *opioid receptor like-1*). No obstante, su gran homología con los receptores μ , δ y κ , los ligandos opioides endógenos, como la β -endorfina, la dinorfina A y las encefalinas, no presentan gran afinidad por este receptor. Después del descubrimiento del ORL-1, se aisló su péptido endógeno; éste tiene gran afinidad (nanomolar) para su receptor. Dos grupos de investigación independientes reportaron con este péptido: el grupo de Meunier lo llamó nociceptina y el grupo de Reinscheid, orfanina FQ. El ORL-1 y la nociceptina/orfanina FQ (N/OFQ) tienen una distribución anatómica amplia en el sistema nervioso, principalmente en los núcleos olfatorios, corteza cerebral, hipocampo, región septal, ganglios basales, tálamo, hipotálamo, puente, bulbo, pedúnculos cerebrales, médula espinal y retina, lo que evidencia su participación en diversas funciones cerebrales. La administración de la N/OFQ puede producir hiperalgesia, alodinia, efectos antiopioideos o analgesia. Estos efectos dependen básicamente de la dosis y de la vía de administración. Además, alteraciones en la locomoción, en el comportamiento exploratorio motivacional, en la ansiedad, memoria, alimentación y modulación neuroendocrina. La N/OFQ se deriva de un precursor de alto peso molecular, la prepronociceptina (PPNOC), el cual contiene una sola copia de la secuencia

*Laboratorio de Histología y Microscopía Electrónica. Subdirección de Neurociencias. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Calzada México-Xochimilco 101. San Lorenzo Huipulco, 14370, México, D.F. Tel. (5255) 5655-2811 ext. 179. Fax: (5255) 5655-9980.

Correspondencia: doctora Martha León-Olea, e-mail: marthalo@imp.edu.mx

Recibido: 5 de septiembre de 2001. Aceptado: 13 de septiembre de 2001.

de aminoácidos de la N/OFQ. El gen de la PPNOc está conservado en cinco especies animales estudiadas (rata, ratón, porcino, bovino y humano) y se expresa predominantemente en hipotálamo, mesencéfalo, núcleos del lemnisco lateral, oliva superior, núcleo trigeminal espinal y médula espinal. Debido al reciente descubrimiento de este péptido y su receptor, además de su amplia distribución en el sistema nervioso, resulta obvio que su participación en la fisiología y sus probables implicaciones farmacológicas todavía no están completas. La presencia de la N/OFQ en especies de los primeros niveles de la escala filogenética como son los moluscos *Helix aspersa*, *H. pomatia* y *Cepaea nemoralis*, donde se demostró también que la administración de N/OFQ tiene un efecto pronociceptivo similar a la hiperalgesia de los mamíferos, sugieren que este nuevo sistema opioide tiene un origen filogenético temprano y una continuidad funcional durante el curso de la evolución.

En este artículo se hace una revisión de la literatura acerca de este nuevo receptor: el ORL-1 y su péptido endógeno, la nociceptina/orfanina FQ.

Palabras clave: Péptidos opioides, receptores opioides, nociceptina, orfanina FQ, ORL-1.

INTRODUCCIÓN

Los avances en las técnicas de la biología molecular y, en especial, la clonación y la caracterización de los receptores opioides δ , μ y κ (24, 26, 47, 48, 65, 103) permitieron el descubrimiento y la caracterización de un nuevo receptor: el ORL-1 (por sus siglas en inglés, *opioid receptor like-1*) (62). Se le dio este nombre por su homología estructural con los receptores opioides. Sin embargo, el receptor ORL-1 no une con alta afinidad a ninguno de los opioides clásicos ni a sus agonistas o antagonistas (8, 68, 93).

Este receptor se describió por varios autores en diferentes especies animales con distintos nombres (Cuadro 1).

CUADRO 1
Diferentes nombres del receptor de la nociceptina/orfanina FQ

Receptor	Animal	Referencia
LC132	rata	Bunzow y cols., 1994
ROR-C	rata	Fukuda y cols., 1994
Oprl	rata	Chen y cols., 1994
C3	rata	Lachowicz y cols., 1994
XOR1	rata	Wang y cols., 1994
MOR-C	ratón	Nishi y cols., 1994
Hyp 8-1	humano	Wick y cols., 1994
ORL-1	humano	Mollereau y cols., 1994 Marchese y cols., 1994 Keith y cols., 1994
	cerdo	Osinsky y cols., 1999

El ORL-1, al igual que los receptores opioides, son proteína membranal acoplada a proteínas G de tipo inhibitorio (G_i), que inhibe la adenilato ciclasa y la entrada de calcio a la célula, y que aumenta la conductancia de la membrana al potasio (4, 81, 105, 112). El análisis comparativo de la estructura de los receptores opioides μ , δ , κ con el ORL-1 muestra que estos receptores están formados por siete dominios peptídicos transmembranales altamente hidrofóbicos, un extremo extracelular amino terminal y un extremo citoplasmático carboxilo terminal, ambos hidrofílicos (24, 103, 99).

La homología de los dominios trans-membranales entre los receptores μ , δ , κ está entre 60%-67% (1, 23, 99), mientras que comparados con el ORL-1 es de 63-65% (34, 61). La composición de aminoácidos en los extremos amino y carboxilo terminales es distinta en cada uno de los receptores opioides. El receptor κ es el que tiene mayor homología con el ORL-1. Este perfil de homología sugiere que el receptor ORL-1 posee mecanismos de señalamiento intracelular similares a los empleados por los otros miembros de receptores de la familia opioide. Algunos reportes parecen confirmar estas hipótesis de acoplamiento funcional intracelular del receptor ORL-1 (13, 30, 33, 72). El análisis de la estructura del receptor ORL-1 muestra que se encuentra altamente conservado en la rata, el ratón y el humano (*v.g.*, 95% de identidad a nivel de la secuencia de aminoácidos cuando se comparan las secuencias de la proteínas receptoras del humano y la rata).

El gen del ORL-1 se localiza en la región distal del cromosoma 2 del ratón (10,78) y en el humano en la región q 13.2-13.3 del cromosoma 20 (47, 69). La secuencia que codifica al ORL-1 en términos de la organización de intrones-exones es casi idéntica a los receptores μ , δ , κ . Lo anterior sugiere que los cuatro genes que dan origen a estos receptores provienen de un ancestro común y por tanto pertenecen a una misma familia (62).

La distribución anatómica del receptor ORL-1 muestra que se expresa en casi todas las regiones del SNC de la rata, particularmente en las áreas corticales y cortico-límbicas (amígdala, hipocampo, habénula, septum), además de *substantia nigra*, hipotálamo, tallo cerebral y astas dorsales y ventrales de la médula espinal. También está presente en las neuronas de los ganglios de las raíces dorsales (107).

Estos estudios se llevaron a cabo por medio de hibridación *in situ* del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) que lo codifica (6, 26, 69, 77), y por inmuno-histoquímica (2).

Esta distribución anatómica amplia sugiere su

participación en la modulación de diversas funciones cerebrales como: nocicepción, procesamiento motor, sensorial, cognoscitivo, neuroendocrino, así como en el aprendizaje y la memoria. El ORL-1 se localiza también en intestino, músculo esquelético, vasa deferente y bazo de rata (106) así como en linfocitos humanos (107); esto último implica un papel en las funciones inmunológicas.

La nociceptina/orfanina FQ: ligando endógeno del receptor ORL-1

El ORL-1 se clasificó dentro de los receptores huérfanos (*orphans*) por no tener un ligando endógeno conocido. Con base en la estructura de aminoácidos de los receptores ORL-1 y κ , se esperaba que el ligando endógeno del ORL-1 fuera parecido a la Dinorfina A. A partir de extractos crudos de cerebro de rata (62) y cerdo (91), dos grupos de investigación lograron identificar y aislar molecularmente un péptido endógeno que se une con alta afinidad al receptor ORL-1 ($K_d \sim 0.1$ nM), y es un potente agonista de este receptor ($ED_{50} \sim 1$ nM) (7). Este ligando, llamado nociceptina por el grupo de Meunier (1995), y orfanina FQ por el grupo de Reinscheid (1995), es estructuralmente idéntico en las dos especies de mamíferos. La nociceptina/orfanina FQ (N/OFFQ) es un péptido de 17 aminoácidos (**FGGFTGARKSARKLANQ**), con una masa molecular de alrededor de 1800 daltones, y tiene una estrecha homología con el péptido opioide dinorfina A (1-17); sin embargo, no se une con alta afinidad a ninguno de los receptores opioides (8, 68, 93).

Los efectos que produce la N/OFFQ dependen de la dosis y de la vía de administración. Estos incluyen hiperalgesia, alodinia, efectos antiopioidérgicos y analgésicos, además de presentar otros efectos como modificación de las conductas locomotriz y exploratoria, la motivación, la ansiedad, memoria e ingesta de alimentos (58, 62, 93, 110) (Cuadro 2).

Precursores

Los péptidos opioides clásicos provienen de tres proteínas precursoras de alto peso molecular: la proopiomelanocortina (POMC) (76), la proencefalina A (12, 80) y la prodinorfina o proencefalina B (38). Estas proteínas precursoras contienen entre 209 y 267 aminoácidos y un peso molecular cercano a los 30 000 daltones. De ellas se derivan los péptidos opioides clásicos. A su vez, la N/OFFQ se deriva de una molécula precursora muy parecida en su constitución a las de los opioides. Contiene 176 aminoácidos en el humano y bovino, 181 en la rata y 187 en el ratón. Se nombró prepronociceptina (PPNOC) y contiene una sola copia de la secuencia de aminoácidos de la N/OFFQ (34, 62, 82, 86). El gen de la PPNOC se localiza en la región 8p21 del cromosoma 8 del humano (34, 70). Saito y colaboradores (1995) clonaron este mismo precursor aislado de células de neuroblastoma, el cual está codificado en el gen N23K. La PPNOC contiene varios sitios para el rompimiento enzimático, como los pares de aminoácidos básicos lisina y arginina, arginina y lisina, arginina y arginina (8, 19, 70, 83). En el procesamiento de la nociceptina intervienen las enzimas, aminopeptidasa N y la endopeptidasa 24.15 (71); la secuencia de la nociceptina está flanqueada por los pares de aminoácido básicos lisina y arginina, donde actúan estas enzimas (8, 71). En este precursor se encuentran sitios de rompimiento enzimático que originan diversos péptidos bioactivos que no se unen al ORL-1 y tienen efectos diferentes a la N/OFFQ. Esta, en su región carboxilo terminal, está flanqueada por otro heptadecapéptido (NocII) o bidecapéptido (NocIII), que corresponde a la NocII con una extensión de tres residuos de arginina (14). En la región amino-terminal, la N/OFFQ está flanqueada por un péptido de 41 aminoácidos, del cual se origina otro heptadecapéptido, llamado nocistatina, por el efecto antagónico sobre la hiperalgesia y la alodinia inducidas por la N/OFFQ. La nocistatina se conserva

CUADRO 2
Comparación entre la secuencia de aminoácidos de la nociceptina/orfanina FQ y la de los péptidos opioides

Péptido	Secuencia
Nociceptina/orfanina FQ	-F- G-G-F -T-G-A-R- K-S-A-R-K-L-A-N-Q -
Dinorfina A, 1-17	-Y- G-G-F -L-R- R-I-R-P-K-L-K-W-D-N-Q -
α -Neoendorfina	-Y- G-G-F -L-R-K-Y-P-
Dinorfina B	-Y- G-G-F -L-R-R-Q-F-K-V-V-T-
β -endorfina	-Y- G-G-F -M-T-S-E- K-S-Q-T-P-L-V-T-L-F-K-N-A-I-V-K-N-A-H-K-K-G-Q -
Leu-encefalina	-Y- G-G-F -L-
Met-encefalina	-Y- G-G-F -M-

Los aminoácidos que comparte la N/OFFQ con los péptidos opioides aparecen en negritas.

Péptido señal			
Bovino	MKILFCDLLLLSLFSSVSSSCQKDCLVCREKLRPTLDSFSLEMCILECEEK A FTSPLWTP	60	
Humano	MK V LLCDLLLLSLFSSV F SSCQRDCL T CQEK L HPALDSFDLEVCILECEEK V FP S PLWTP	60	
Ratón	MKILFCD V LLLLSLSSV F SSCPRDCL T CQEK L HPAPDSFNL K T C ILQCEEK V FP R PLWTV	60	
Rata	MKILFCD V LLLLSLSSV F SSC P EDCL T CQER L HPAGSFNL K L C ILQCEEK V FP R PLWTL	60	
bPNP-2			
Bovino	CTKVMARGSWQLSPADPDHVAALDQPRASEMQHL K RMPRVRS L FQ R Q----- K	109	
Humano	CTKVMAR S SWQ LSPA A EHVAALYQPRASEMQHL R RMPRVRS L FQ E Q----- E	109	
Ratón	CTKVMAS G SGQLSPADP E LV S AALYQ P KASEMQHL K RMPRVRS L VQ V RDAEPGADAEPGA	120	
Rata	CT K AMA S DE Q LSPADPE L T S AA L Y Q SKASEMQHL K RMPRVRS V VQ A RD A E P E A -----	114	
bPNP-3 (Nocistatina) N/OFQ bPNP-4			
Bovino	R TEPGLEEV G E I EQK Q LQ K RFGGFTGARKSARKLANQ K RFSEFMRQYLVL S MQSSQ R RR T	169	
Humano	E PEPGMEE A GE M EQKQLQ K RFGGFTGARKSARKLANQ K RFSEFMRQYLVL S MQSSQ R RR T	169	
Ratón	D AEPGADDAE E V EQKQLQ K RFGGFTGARKSARKLANQ K RFSEFMRQYLVL S MQSSQ R RR T	180	
Rata	D AEPVADEADE V E QKQLQ K RFGGFTGARKSARKLANQ K RFSEFMRQYLVL S MQSSQ R RR T	174	
bPNP-5			
Bovino	LHQNG N A	176	
Humano	LHQNG V	176	
Ratón	LHQNG V	187	
Rata	LHQNG V	181	

Figura 1. Alineación de las secuencias de aminoácidos de la PPNOC de bovino, humano, ratón y rata. Los aminoácidos conservados en las cuatro especies se indican en gris; los aminoácidos de probable ruptura aparecen en negritas y los péptido señal y los péptidos que potencialmente se liberan se muestran con líneas en la parte superior (modificado de Okuda-Ashitaka y cols., 1998).

en humano, bovino y murino (14, 83). El gen de la PPNOC está conservado en las cuatro especies de mamíferos. El análisis de la secuencia del gen de la PPNOC revela características estructurales y de organización muy similares a las de la preproencefalina y preprodinorfina, lo que sugiere que estos precursores pueden derivar de un ancestro común (17, 34, 70, 82). Por medio del análisis de Northern blot, se vio que el gen de la PPNOC se transcribe predominantemente en amígdala, tálamo, hipotálamo, núcleos subtalámicos y *substantia nigra* de rata y humano (82). (Fig. 1).

Distribución anatómica de la N/OFQ

La N/OFQ tiene una distribución anatómica amplia en el SNC de la rata (66, 77). En el cerebro, la inmunorreactividad (IR) a la N/OFQ (IR-N/OFQ) se localiza en sistema olfatorio, corteza cerebral, hipocampo, región septal, ganglios basales, tálamo, hipotálamo, puente, bulbo, pedúnculos cerebrales, complejo sensorial trigeminal, núcleos del rafé, *locus coeruleus*, cerebelo, médula espinal y retina (51, 52, 66, 92, 98).

En la médula espinal se encuentra en las astas dorsales y ventrales, principalmente en las láminas superficiales II y III, en el núcleo lateral espinal y en la lámina X (51, 52, 92, 98). En las astas dorsales de la médula espinal, la IR-N/OFQ persiste después de la rizotomía dorsal, lo que indica que el péptido se origina centralmente, más que en las neuronas aferentes primarias (92). Varias de estas regiones cerebrales y de la médula espinal contienen también péptidos opioides. Sin embargo, en estudios realizados con microscopia confocal en los que se utilizaron doble marcaje, se encontró que en general no existe colocación de los péptidos opioides y la N/OFQ, si bien hay algunas excepciones en ciertas fibras y terminales nerviosas (98). En un estudio reciente que compara la localización de la N/OFQ y del RNA mensajero de su precursor, la PPNOC, en el SNC de la rata, la IR a la N/OFQ y la expresión del ARNm de la PPNOC correlacionan en todas las áreas estudiadas (77). También se identificó en extractos de hipotálamo de mono mediante técnicas de cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Se detectaron múltiples picos de inmunorreactividad, y el pico más alto se coeluyó con el péptido sintético N/OFQ (88).

ALGUNOS ASPECTOS DE LA FISIOLÓGIA DE LA NOCICEPTINA

Los péptidos opioides participan en varios sistemas biológicos como la nocicepción, la neurosecreción y la regulación hormonal, e intervienen en el crecimiento y el desarrollo de los organismos. Su efecto a nivel celular es principalmente como modulador inhibitorio.

Nocicepción

Desde el descubrimiento del ORL-1 y su ligando endógeno, la N/OFQ, se predijo que podrían participar en la modulación del sistema algésico. Esta suposición era razonable, ya que se fundamentaba en la homología del receptor y su ligando con los péptidos opioides, y a que su distribución anatómica, la N/OFQ y el ORL-1, tienen una alta densidad en los núcleos asociados con los procesos nociceptivos (66, 77).

Los efectos de la administración de N/OFQ sobre la nocicepción son contradictorios y dependen básicamente de la dosis y la vía de administración.

En los primeros estudios en que se aplicó la N/OFQ a ratas y ratones por vía intracerebroventricular (i.c.v.), se obtuvo un incremento en la sensibilidad al dolor; de allí el nombre de "nociceptina" (62, 91). Si la aplicación de N/OFQ se efectúa por vía intratecal (i.t.), se produce antinocicepción (20, 32, 102, 108).

Estudios subsecuentes en que se utilizaron métodos electrofisiológicos y de comportamiento mostraron que el efecto espinal de la N/OFQ es principalmente inhibitorio y produce antinocicepción en roedores (101, 110).

Por otro lado, Vanderah y cols. (1998) reportaron que no hay un efecto nociceptivo significativo dosis-dependiente cuando se aplican inyecciones i.t. e i.c.v. de N/OFQ, en dosis que van de 0.055 a 10 nM en ratones evaluados en la prueba de plancha caliente.

Minami y cols. (1997) encontraron que la prostaglandina D2 (PGD2) inhibe de manera dosis-dependiente a la alodinia inducida por N/OFQ, a través de los receptores a prostaglandinas D en la médula espinal; ellos mismos sugieren que la glicina puede estar involucrada en esta inhibición ya que ésta bloquea también la alodinia producida por la N/OFQ.

Rossi y cols. (1996) reportaron que la N/OFQ tiene un efecto hiperalgésico rápido y uno analgésico tardío al inyectar 10 µg vía i.c.v. en ratones, y al ser evaluados éstos con la prueba de presión de la

cola (*tail-flick*). El efecto hiperalgésico no es sensible a antagonistas opioides, pero el efecto analgésico sí, por lo que ellos sugieren que la N/OFQ actúa sobre un nuevo subtipo de receptor a N/OFQ.

Por otro lado, Kavaliers y Perrot-Sinal (1996) en *Cepaea nemoralis*, y nuestro grupo, en el caracol de jardín *Helix aspersa* (54, 63), reportamos que, después de una inyección de N/OFQ (10 ng/20 µl) en la cavidad del hemocele, los caracoles presentan un efecto pronociceptivo al ser evaluados en la prueba de la plancha caliente.

Este efecto pronociceptivo se puede comparar con la hiperalgesia de los mamíferos.

Efecto antiopioide

Mogil y cols. (1996a) demostraron mediante pruebas termonociceptivas, que la N/OFQ revierte el efecto analgésico de la morfina al administrar por vía i.c.v. una mezcla de agonistas de los receptores μ , δ , y κ más N/OFQ 10.0 nM. Asimismo, la aplicación de N/OFQ i.c.v. en dosis de 0.1 a 10.0 nM revierte los efectos analgésicos inducidos por electroacupuntura de manera dosis-dependiente, en forma similar a la reversión de los efectos analgésicos inducidos por la morfina (19, 102). La tolerancia y la dependencia a la morfina se pueden atenuar o revertir por antagonistas o agonistas del ORL-1 (37).

La administración de N/OFQ vía i.c.v. en dosis 10 nM, 15 minutos después de la aplicación de la morfina reduce significativamente la liberación de dopamina en el núcleo *accumbens* en estudios de microdiálisis, lo cual evidencia el papel modulador de la N/OFQ en este núcleo cerebral (27, 74). Otra de las posibles funciones moduladoras de la N/OFQ es sobre la liberación de Met-enkefalina (ME); en dosis bajas de N/OFQ (1-10 nM) inhibe la liberación y, en dosis altas (100-1000 nM), produce un incremento en la liberación de ME en el plexo mientérico de cobayo (28).

Locomoción y efecto muscular

Cuando la N/OFQ se administra i.c.v. (10 nM), causa una disminución en la actividad locomotora e induce ataxia y pérdida de los reflejos posturales (79, 90, 91). Florin y cols. (1996), con dosis menores (5-50 pM), pudieron inhibir o estimular la actividad locomotora y la conducta exploratoria en ratones. Estos efectos no son sensibles a la naloxona, pero son revertidos por antagonistas dopaminérgicos D₁ y D₂, lo que sugiere que puede ocasionarlos un incremento en la transmisión dopaminérgica. Con

dosis de 10 a 100 nM de N/OFQ vía i.c.v. se produce en ratas una pronunciada depresión locomotora, que incluye pérdida de la coordinación, balance y tono muscular. La tolerancia a estos efectos se desarrolla rápidamente al segundo o tercer día del tratamiento, y permanece durante aproximadamente siete días después de la última inyección de N/OFQ (21, 100). Sandin y cols.(1997) administraron N/OFQ (10 nM) directamente en hipocampo y reportaron una disminución en el tiempo de presentación de la conducta exploratoria con aumento en la locomoción en respuesta a estímulos nuevos. El efecto depresor de la locomoción parece ser específicamente supraespinal ya que, cuando las ratas reciben dosis de entre 0.5-10 nM de N/OFQ vía i.t., no presentan ninguna alteración locomotora (102, 108). Nishi y cols. (1997) sugieren que la N/OFQ no tiene un efecto tónico sobre la locomoción, ya que los ratones que carecen del gen del receptor ORL-1 no presentan anomalías en el comportamiento locomotor.

La N/OFQ actúa también como un neuromodulador de la motilidad gastrointestinal. Actúa en el sistema nervioso periférico y central, estimulando o inhibiendo la actividad mecánica en el estómago y colon, respectivamente (85).

En el músculo liso de la tráquea del cuyo y de la rata, la N/OFQ revierte la broncoconstricción producida por la estimulación con campos eléctricos (87).

Cardiovascular y renal

La administración de N/OFQ produce variaciones importantes en el corazón y la presión arterial (9, 29, 43), además de cambios en las funciones excretoras renales, como diuresis y antinatriuresis (43). Los experimentos realizados en ratas y ratones demostraron que administrar el péptido vía i.c.v. produce vasodilatación, hipotensión y bradicardia 30 segundos después de la inyección, y que el efecto dura entre 30 y 40 minutos (41, 42). La administración i.v. o i.t. a diferentes dosis de N/OFQ en el bulbo rostral ventrolateral produce los mismos efectos (9, 11, 16). En borregos se reportaron resultados opuestos, ya que en ellos la administración de N/OFQ produce hipertensión y aumento de la frecuencia cardíaca (3). La explicación a este cambio en la respuesta en el borrego sugiere que las variaciones en el tono autonómico basal entre especies animales contribuyen a dar respuestas paradójicas a la administración de N/OFQ, ya que los niveles de frecuencia cardíaca y de presión arterial son mucho menores en el borrego (68 ± 3 lpm

y 79 ± 3 mmHg) que en el ratón (551 ± 46 lpm y 112 ± 4 mmHg) y la rata (390 ± 10 lpm y 115 ± 5 mmHg) (42, 56). En condiciones en que predomina el tono simpático (ratas y ratones), la N/OFQ ejerce un efecto inhibitorio simpático y activa potencialmente el parasimpático. En condiciones de predominio parasimpático (borrego), existe la posibilidad de que la N/OFQ actúe periféricamente inhibiendo la neurotransmisión colinérgica, pero esta acción inhibitoria permite que prevalezca el efecto simpático, ya que el pretratamiento con phenoxybenzamina y propanolol atenúa la respuesta presora y taquicárdica (3). El grupo de Kapusta (40, 41, 42, 43) encontró respuestas cardiovasculares y renales semejantes en ratas tratadas con N/OFQ. Estos investigadores reportan una marcada disminución en la frecuencia cardíaca, un aumento en la presión arterial y una excreción del sodio urinario, así como un profundo incremento en la tasa del flujo urinario. Por lo anterior proponen que la N/OFQ interacciona con la liberación de hormonas del eje hipotálamo/hipofisario. Por otro lado, evidencias fisiológicas sugieren que la N/OFQ modula la liberación hormonal en el eje hipotálamo-hipofisario, inhibiendo la acción de las neuronas magnocelulares en el núcleo supraóptico y presumiblemente sobre la secreción de la oxitocina y la hormona antidiurética (39).

Memoria y aprendizaje

Los experimentos con ratones *knockout* para el receptor ORL-1 sugieren que la N/OFQ participa en aspectos de potenciación a largo plazo, aprendizaje y memoria, modulando posiblemente el sistema dopaminérgico (58, 59, 75). La pérdida del receptor ORL1 genera una ganancia en los procesos de memoria y en los mecanismos de potenciación de largo plazo en el área CA1. Lo anterior sugiere que la N/OFQ puede modular dichos procesos. Sin embargo, el incremento en la atención y la disminución en la latencia del aprendizaje pueden ser resultado de la supresión de la función dopaminérgica en el ratón *knockout* al receptor ORL1 (80).

Actividades antiestrés

La N/OFQ actúa como ansiolítico en ratas y ratones, ya que la administración i.c.v. del péptido (0.1 a 3 nM) reduce la conducta defensiva ante estímulos estresantes como: variación de la intensidad de luz, laberintos, privación de alimento, etc. (31, 36). El grupo de Kôster (1999) generó

ratones *knockout* para la N/OFQ, y así observaron que en los homocigotos hay un aumento en el comportamiento de ansiedad cuando se exponen a pruebas de estrés y ambientes amenazantes. Estas evidencias sugieren que el sistema N/OFQ se activa principalmente en situaciones de alto estrés y que funciona como modulador en los procesos neurobiológicos de la respuesta ante estímulos dañinos (31, 49).

Termorregulación

Yakimova y Pierau (1999) estudiaron los efectos de la N/OFQ (1,10 y 100 nM) sobre la sensibilidad a la temperatura en neuronas del área preóptica de rebanadas del hipotálamo anterior de la rata y en ratas íntegras. La sensibilidad a la temperatura se midió después de la administración intrahipotalámica de la N/OFQ. En dosis bajas (1nM) incrementa significativamente la sensibilidad a la temperatura de las neuronas que responden a temperaturas medias, mientras que con concentraciones mayores (100 nM) disminuye la sensibilidad a la temperatura en neuronas sensibles a temperaturas medias y en neuronas insensibles a la temperatura. Los experimentos *in vivo* muestran que la nociceptina (1 nM; 1 μ l/rata) disminuye significativamente la temperatura corporal entre 30 y 60 minutos después de la administración intrahipotalámica de N/OFQ.

Aspectos filogenéticos

La existencia de los péptidos opioides y sus receptores se ha documentado ampliamente a lo largo de la escala filogenética, abarca desde organismos unicelulares, invertebrados, protocordados y vertebrados al ser humano (17, 45, 53, 73, 84). Estos péptidos participan en funciones similares en organismos que presentan grupos taxonómicos diferentes y distantes. La expansión y la diversificación funcional de familias multigenes, como la de los opioides, ha sido tema recurrente en el estudio del éxito evolutivo de los organismos eucariontes complejos. Las moléculas precursoras de los péptidos opioides clásicos se encuentran codificadas en tres genes: la proopiomelanocortina (que origina la β -endorfina, MSH-peptidos asociados), la proencefalina (que origina como productos finales la Met-encefalina y la Leu-encefalina), la prodinorfina (que origina como productos finales a las dinorfinas y la α -neoendorfina) (38, 76, 80, 111). Con el descubrimiento de la N/OFQ (62, 91), el ligando endógeno del ORL-1 y de su molécula

precursora, la proorfina, se vio que con base en su organización molecular, el gen que codifica este precursor se relaciona evolutivamente con los genes de los precursores opioides clásicos. La proorfina de los mamíferos tiene la misma estructura intrón-exón, las cisteínas N-terminales y una modificación en la secuencia central opioide que es FGGF por YGGF, característica que define a los precursores opioides clásicos. También a nivel celular, tanto los opioides clásicos como la N/OFQ se acoplan a la forskolina para inhibir la actividad de la adenilato ciclasa, y los canales tipo N-Ca²⁺, y activa los canales de K⁺, permitiendo su salida. Por lo anterior se ha propuesto que el precursor de la N/OFQ y de los opioides clásicos se origina por duplicación secuencial de un gen ancestral común (17) y que divergencias subsecuentes de estas secuencias se procesaron en paralelo con sus proteínas receptoras. Los péptidos opioides se unen y activan a los receptores μ , δ , y κ con diferentes grados de especificidad; la N/OFQ se une únicamente al ORL-1, no se une con alta afinidad a los receptores opioides y no produce ningún efecto (60). En la síntesis *in vitro* de péptidos en que se producen alteraciones sistemáticas de uno o varios aminoácidos, se ha visto que, al remplazar la fenilalanina N-terminal de la N/OFQ por la tirosina característica de los péptidos opioides clásicos (89, 90), se produce un análogo de la N/OFQ que se une al receptor κ , con alta afinidad (1 μ M) y que produce un efecto agonista. Recientemente, Danielson y cols. (2001) reportaron que la organización de la proorfina del esturión *Acipenser transmontanus* (considerado un pez fósil viviente) contiene naturalmente la tirosina N-terminal, y es capaz de unirse al ORL-1 y a los receptores opioides con una afinidad casi igual. Este hallazgo ofrece evidencias de que el gen de la proorfina se encuentra en un estado intermedio en la evolución de esta familia de genes de los vertebrados. El estado molecular "fósil" del gen de la proorfina del esturión se puede considerar como una secuencia ancestral característica de donde se originan los genes de la prodinorfina o la proencefalina.

La N/OFQ y su receptor se han demostrado en la rata, el ratón y en el humano (66, 77, 98). Son pocos los trabajos en especies animales, que no sean mamíferos, en donde se demuestre la existencia de la N/OFQ y su receptor o su efecto; entre éstos están estudios hechos en fracciones de membrana cerebral de la *Rana esculenta*, que demostraron sitios de unión específicos a N/OFQ (5). En el molusco *Lymnaea stagnalis* se aisló el gen del receptor a N/OFQ, y por medio de una hibrida-

ción *in situ* se demostró que se expresa en neuronas identificadas que participan en varios sistemas, como la alimentación y el balance hidroelectrolítico (Saunders y cols., 2000). En el caracol *Cepaea nemoralis*, la inyección de N/OFQ tiene un efecto pronociceptivo (44). Nuestro grupo demostró la existencia de inmunorreactividad a N/OFQ en el ganglio nervioso periesofágico del caracol *Helix aspersa* con una distribución anatómica amplia. Corroboramos, además, el efecto pronociceptivo de la aplicación de la N/OFQ y el efecto antinociceptivo del antagonista del ORL-1, la Phe¹ψ(CH₂-NH)Gly²NC(1-13)NH₂, en este caracol por medio de la prueba de plancha caliente (54, 63, 95). Estos hallazgos apoyan el hecho de que este nuevo sistema opioide, la N/OFQ, y su receptor, el ORL-1, tienen un origen filogenético temprano y una continuidad funcional durante el curso de la evolución.

DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

En 1995 se identificaron el receptor ORL-1 (62) y su ligando endógeno, la N/OFQ (62, 91), y este hecho abrió un nuevo capítulo de investigación en el campo de los opioides, que ha motivado a la comunidad científica a dilucidar sus funciones. En los últimos años se publicaron más de 500 artículos sobre el tema. Lo anterior no resulta sorprendente debido a la gran variedad de efectos de este péptido y su posible papel en el control de varias funciones neurobiológicas, que incluyen no sólo la nocicepción, sino la motivación, el aprendizaje y la memoria; el estrés y la ansiedad; la regulación hormonal, y las funciones cardiovasculares, renales e intestinales.

El receptor ORL-1 y su péptido endógeno, la N/OFQ, se consideraron como miembros de la familia de los opioides por su gran homología estructural. Sin embargo, los opioides no se unen con alta afinidad al receptor ORL-1, así como tampoco la N/OFQ se une a ningún receptor opioide. La N/OFQ y los péptidos opioides tienen una distribución anatómica similar en el SNC, pero se localizan en circuitos neuronales separados (98). La N/OFQ activa las mismas vías de señalización intracelulares que los opioides, como las de las proteínas G_i que inhiben a la adenilato ciclasa y la entrada del calcio a la célula, y que estimulan la salida del potasio (4, 81, 105, 112). El resultado es como en el caso de los péptidos opioides, la reducción en la actividad neuronal. No obstante, en vivo, el perfil farmacológico de la N/OFQ difiere y en

ocasiones es opuesto al de los opioides, como es su efecto pronociceptivo (44, 54, 55, 61, 62) o su efecto al inhibir la analgesia mediada por opioides (19, 37, 67, 68, 102). Sin embargo, es claro que la inhibición que produce la N/OFQ en las neuronas inhibitorias puede dar como resultado un incremento de la actividad neuronal, dependiendo de la circuitería en donde actúe. En el mismo sentido, se sabe que la morfina produce una activación indirecta de las neuronas mesocorticolímbicas al inhibir a las neuronas gabaérgicas que producen una inhibición tónica sobre estas neuronas (22).

En el campo de la filogenia, Danielson y Dores (1999) propusieron la existencia de un gen ancestral que pudiera ser el precursor de la N/OFQ y de los opioides clásicos. Dichos investigadores encontraron que, debido a la organización de la pronociceptina, en el esturión *Acipenser transmontanus* la N/OFQ es capaz de unirse al ORL-1 y a los receptores opioides con una afinidad casi igual. Este hecho aporta la evidencia de que, en este esturión, el gen de la pronociceptina es una secuencia ancestral en la cual se pudieron haber originado los genes de la prodinorfina o la proencefalina. Por otro lado, en el molusco *Lymnaea stagnalis* se aisló el gen del receptor ORL-1 (97), y en los moluscos *Cepaea nemoralis* y *Helix aspersa* la inyección de N/OFQ surte un efecto pronociceptivo (44, 55) igual que en los mamíferos, por lo que tales evidencias apoyan el hecho de que este nuevo sistema opioide, la N/OFQ, y su receptor, el ORL-1, tienen un origen filogenético temprano y una continuidad funcional durante el curso de la evolución.

Debido al descubrimiento reciente de la N/OFQ y a la amplia distribución anatómica de este péptido y su receptor en el sistema nervioso, resulta obvio que aún es necesario investigar más a fondo su participación en la fisiología y sus probables implicaciones farmacológicas. El estudio de este sistema péptido receptor permitirá un mejor conocimiento de la fisiología cerebral. La elaboración de agonistas y antagonistas de naturaleza no peptídica puede aportar las herramientas necesarias para entender el papel del sistema ORL-1/N/OFQ en la fisiopatología, además de ayudar a encontrar nuevas aplicaciones terapéuticas, como en el manejo del dolor, de los líquidos corporales y la regulación neuroendocrina.

Agradecimientos

A los doctores Francisco Pellicer y Enrique Soto por la revisión del texto y sus comentarios. A Feliciano Camacho por su asistencia técnica. Esta revisión fue financiada parcialmente por el proyecto CONACYT 29151N, de León-Olea M.

REFERENCIAS

1. AKIL H, MENG D, DEVINE S, WATSON J: Molecular and neuroanatomical properties of the endogenous opioid system: implications for the treatment of opiate addiction. *Semin Neuroscience*, 9:70-83, 1997.
2. ANTON B, FEIN J, TO T, LI X, SILBERSTEIN L, EVANS C: Immunohistochemical localization of ORL-1 in the central nervous system of the rat. *Comp Neurol*, 368:229-251, 1995.
3. ARNDT M, WU D, SOONG Y, SZETO H: Nociceptin/orphanin FQ increases blood pressure and heart rate via sympathetic activation in sheep. *Peptides*, 20(4):465-470, 1999.
4. BEFORT K, MATTEI MG, ROECKEL N, KIEFFER B: Chromosomal localization of the δ opioid receptor gene to human 1p34.4-p36.1 and mouse 4D bands by *in situ* hybridization. *Genomics*, 20:143-145, 1994.
5. BENYHE S, MONORY K, FARKAS J, TOTH G, GUERRINI R, SALVADORI S, OROSZ G, WOLLMANN M, BORSODI A: Nociceptin binding sites in frog (*Rana esculenta*) brain membranes. *Biochem Biophys Res Commun*, 260(3):592-6, 1999.
6. BUNZOW J, SAEZ C, MORTURD M, BOUVIER C, WILLIAMS J, LOW M, GRANDY D: Molecular cloning and tissue distribution of a putative member of the rat opioid receptor gene family that is not a μ , δ or κ opioid receptor type: *FEBS Lett*, 347:279-283, 1994.
7. BUTOUR J-L, MOISAND CH, MOLLEREAU C, MEUNIER J-C: Phe1(CH2-NH)Gly2Nociceptina(1-13)NH2 is an agonist of the nociceptin (ORL1) receptor: *Eur J Pharmacol*, 349:R5-R6, 1998.
8. CALO G, GUERRINI R, RIZZI A, SALVADORI S, REGOLI D: Pharmacology of nociceptin and its receptors: a novel therapeutic target. *Brit J Pharmacol*, 129:1261-83, 2000.
9. CHAMPION H, KADOWITZ P: Nociceptin, an endogenous ligand for the ORL(1) receptor, has novel hypotensive activity in the rat. *Life Sci*, 60:241-45, 1997.
10. CHEN Y, FAN Y, LIU J, MESTEK A, TIAN M, KOZAK CA, YU L: Molecular cloning, tissue distribution and chromosomal localization of a novel member of the opioid receptor gene family. *FESB Lett*, 347:279-283, 1994.
11. CHU X, XU N, LI P, WANG J: Profound inhibition of cardiomotor neurons in the rat rostral ventrolateral medulla by nociceptin (orphanin FQ). *Neuroreport*, 9:1081-84, 1999.
12. COMB M, SEEBURG P, ADELMAN J, EIDEN L, HEBERT E: Primary structure of the human met- and leu- enkephalin precursor and its mRNA. *Nature*, 295:663-4, 1982.
13. CONNOR M, VAUGHAN C-W, CHIENG B, CHISTIE M-J: Nociceptin receptor coupling to a potassium conductance in rat locus coeruleus neurones *in vitro*. *Br J Pharmacol*, 119:1614-1618, 1996.
14. CONSTENTIN J, FLORIN S, SUAUDEAU C, MEUNIER J-C: Le clonage de la prénociceptine fait découvrir d'autres peptides biologiquement actifs. *C R Soc Biol*, 192:1099-1109, 1998.
15. CRUZ R, RAMIREZ S, LEON-OLEA M, ANTON B, SOTO E: Efecto de la nociceptina/orfanina FQ en neuronas de caracol *Helix aspersa*. XLII Congreso de la Soc. Mex. de Ciencias Fisiol. Res. C171. Universidad Autónoma de Zacatecas, 26-30 de septiembre, Zacatecas, 1999.
16. CZAPLA M, CHAMPION H, KADOWITZ P: Nociceptin, an endogenous ligand for the ORL1 receptor, has vasodilator activity in the hindquarters vascular bed of the rat. *Peptides*, 18(6):793-795, 1997.
17. DANIELSON P, DORES M: Molecular evolution of the opioid orphanin gene family. *Gen Comp Endocrinol*, 113:169-86, 1999.
18. DANIELSON PB, HOVERSTEN MT, FITZ-PATRICK M, SCHRECK C, AKIL H, DORES RM: Sturgeon orphanin: A molecular "Fossil" that bridges the gap between the opioids and orphanin FQ/N. *J Biol Chem*, 276(27):22214-22119, 2001.
19. DARLAND T, HEINIRICHER M, GRANDY D: Orphanin FQ/nociceptin: a role in pain and analgesia, but so much more. *Trend Neurosci*, 21:215-221, 1998.
20. DAWON-BASOA M, GINTZLER A: Nociceptin (Orphanin FQ) abolished gestational and ovarian sex steroid-induced antinociception and induces hyperalgesia. *Brain Res*, 750:48-52, 1997.
21. DEVINE P, TAYLOR L, REINSCHIED R, MONSMA F, CIVELLI O, AKIL H: Rats rapidly develop tolerance to the locomotor-inhibiting effects of the novel neuropeptide orphanin FQ. *Neuro Res*, 21(11):1387-1396, 1996.
22. DI CHIARA G, NORTH RA: Neurobiology of opiate abuse. *Trends Pharmacol Sci*, 13(5):185-93, 1992.
23. DOOLEY C, HOUGHTEN R: Orphanin FQ/Nociceptin receptor binding studies. *Peptides*, 21:949-60, 2000.
24. EVANS CJ, KEITH DE, MORRISON H, MAGENDZO K, EDWARDS RH: Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science*, 258(5090):1952-5, 1992.
25. FLORIN S, SUAUDEAU C, MEUNIER J-C, COSTENTIN J: Nociceptin stimulates locomotion and exploratory behaviour in mice. *Eur J Pharmacol*, 317:9-13, 1996.
26. FUKUDA K, KATO S, MORI K, NISHI M, TAKESHIMA H, WABW N, MIYATA T, HOUTANI T, SGIMOTO T: cDNA cloning and regional distribution of a novel member of the opioid receptor family. *FESB Lett*, 342:42-46, 1994.
27. GIANNUARIO D, PIERETTI S, CATALANI, LOIZZO A: Orphanin FQ reduces morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens: a microdialysis in rats. *Neurosci Lett*, 272:186-187, 1999.
28. GINTZLER A, ADAPA I, TOLL L, MEDINA V, WANG L: Modulation of enkephalin release by nociceptin (orphanin FQ). *Eur J Pharmacol*, 325:29-34, 1997.
29. GIULIANI S, MAGGI C: Inhibition of tachykinin release from peripheral nerve endings of sensory nerves by nociceptin, a novel opioid peptide. *Brit J Pharmacol*, 118:1567-69, 1996.
30. GRANDY K: 27th Meeting of Internatl. *Narcot Res Conf (INRC) Abstr*, 29:S3, 1996.
31. GRIEBEL G, PERRAULT G, SANGER D: Orphanin FQ, a novel neuropeptide with anti-stress-like activity. *Brain Res*, 836:221-224, 1999.
32. GRISEL J, MOGIL J, BELKNAP J, GRANDY D: Orphanin FQ acts as a supraspinal, but not spinal anti-opioid peptide. *Neuroreport*, 7:2125-9, 1996.
33. HAWES B, GRAZIANO M, LAMBERT D: Cellular actions of nociceptin: transduction mechanisms. *Peptides*, 21:961-67, 2000.
34. HOUTANI T, NISHI M, TAKESHIMA H, NUKUDA T, SUGIMOTO T: Structure and regional distribution of nociceptin/orphanin FQ precursor. *Biochem Biophys Res Commun*, 219:714-719, 1996.

35. JENCK F, MOREAU J, MARTIN J, KILPATRICK G, REINSCHIED R, MONSMA F, NOTHACKER H, CIVELLI O: Orphanin FQ acts as an anxiolytic to attenuate behavioral responses to stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:14854-14858, 1997.
36. JENCK F, WICHMANN J, DAUTZENBERG F, MOREAU J, OUAGAZZAL A, MARTIN J, LUNDOSTROM K, CESURA A, POLI S, ROEVEN S, KOLCZEWSKI, ADAM G, KILPATRICK G: A synthetic agonist at the orphanin FQ/nociceptin receptor ORL-1: anxiolytic profile in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97:4938-4943, 2000.
37. JHAMANDAS K, SUTAK M, HENDERSON G: Antinociceptive and morphine modulatory actions of spinal orphanin FQ. *Can J Pharmacol*, 76:314-324, 1998.
38. KAKIDANI H, FURUTANI Y, TAKAHASHI H, NODA H, MARIMATO Y, HIROSE T, ASAI M: Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine β -neoendorphin-dynorphin precursor. *Nature*, 298:245-249, 1982.
39. KAKIYA S, MURASE T, ARIMA H, YOKOI H, IWA-SAKI Y, MIURA Y, OISO Y: Role of endogenous nociceptin in the regulation of arginine vasopressin release in conscious rats. *Endocrinol*, 141:4466-4471, 2000.
40. KAPUSTA D: Neurohumoral effects of orphanin FQ/nociceptin: relevance to cardiovascular and renal function. *Peptides*, 21:1081-1099, 2000.
41. KAPUSTA D, KENIGS V: Cardiovascular and renal responses produced by central orphanin FQ/nociceptin occur independent of renal nerves. *Am J Physiol*, 277(46):R987-995, 1999.
42. KAPUSTA D, CHANG J, KENIGS V: Central administration of [Phe¹(CH₂-NH)Gly²]nociceptin(1-13)NH₂ and orphanin FQ/nociceptin (OFQ/N) produce similar cardiovascular and renal responses in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 289(1): 173-180, 1999.
43. KAPUSTA D, SEZEN S, CHANG J-K, LIPPTON H, KENIGS V: Diuretic and antinatriuretic responses produced by the endogenous opioid-like peptide, nociceptin (orphanin FQ). *Life Sci*, 60(1):15-21, 1997.
44. KAVALIERS M, PERROT-SINAL S: Pronociceptive effects of the neuropeptide nociceptin in the land snail *Cepaea nemoralis*. *Peptides*, 17(5):763-768, 1996.
45. KAVALIERS M: Evolutionary and comparative aspect of nociception. *Brain Res Bull*, 21:923-931, 1988.
46. KEITH D, MAUNG T, ANTON B, EVANS C: Isolation of cDNA clones homologous to opioid receptors. *Reg Peptides*, 54:143-144, 1994.
47. KIEFFER BL: Molecular aspects of opioid receptors. En: Dickerson A, Besson J-M (Eds.). *Pain, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer, 130:281-303, Berlín, 1997.
48. KIEFFER B, BEFORT K, GAVERIAUX-RUFF, HIRTH CH: The delta-opioid receptor: Isolation of a CDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:12048-12052, 1992.
49. KÓSTER A, MONTKOWSKI A, SCHULZ S, STUBE E, KNAUDT K, JENCK F, MOREAU J, NOTHACKER H, CIVELLI O, REINSCHIED R: Targeted disruption of the orphanin FQ/nociceptin gene increases stress susceptibility and impairs stress adaptation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:10444-10449, 1999.
50. LANCHOWICZ JE, SHEN Y, MONSMA FJ, SIBLEY DR: Molecular cloning of a novel G protein-coupled related to the opiate receptor family. *J Neurochem*, 64:34-40, 1994.
51. LEFF P, MARTINEZ I, ACEVEDO R, CALVA J, LEON-OLEA M, CRUZ S, ANTON B: A comprehensive immunohistochemical mapping of nociceptin/orphanin FQ peptide in the CNS of rat. *Neurosci Abst*, 24(1):854, 1998.
52. LEFF P, MARTINEZ I, ACEVEDO R, CALVA J, LEON-OLEA M, CRUZ S, ANTON B: A comprehensive immunohistochemical mapping of nociceptin/orphanin FQ peptide in the CNS of rat methods finder, <http://www.methodsfinder.org>, 1999.
53. LEROIT D, LIOTTA A, ROCH J, SHILOACH J, LEWIS M, PERT C, KREIGER D: Corticotropin and B-endorphin like materials are native to unicellular organisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:2086-2090, 1982.
54. LEON-OLEA M, MILLER-PEREZ C, SANCHEZ-ISLAS E, ANTON B, PELLICER F, MUCIO-RAMIREZ S: Pronociceptive effects and neuroanatomical distribution of the neuropeptide nociceptin/orphanin FQ in the land snail, *Helix aspersa*. 2nd World Congress of World Institute of Pain (Abs. Num. BR 10) Junio 27-30, Estambul, 2001.
55. LEON-OLEA M, MILLER-PEREZ C, SANCHEZ-ISLAS E, PELLICER F, ANTON B, MUCIO-RAMIREZ S: Caracterización anatómica y funcional de la nociceptina/orfanina FQ en los ganglios periesofágicos del caracol *Helix aspersa*. I Congreso de responsables de Proyectos de Investigación en Ciencias Naturales, CONACYT. Veracruz, 8-11 de octubre, México, 2000.
56. MADEDDU P, SALIS M, MILIA A: Cardiovascular effects of nociceptin in unanesthetized mice. *Hypertension*, 33:914-9, 1999.
57. MARCHESI A, DOCHERTY JM, NGUYEN T, HEIBER M, CHENG R, HENG HH, TSUI L, SHI X, GEORGE S, O'DOWN F: Cloning of human genes encoding novel G protein-coupled receptors. *Genomics*, 23:609-618.
58. MAMIYA T, NODA Y, NISHI M, TAKESHIMA H, NA-BESHIMA T: Enhancement of spatial attention in nociceptin/orphanin FQ receptor-knockout mice. *Brain Res*, 783:236-240, 1998.
59. MENABE T, NODA Y, MAMIYA T, KATAGIRI H, HOUTANIT IM, NODA T, TAKAHASHI T, SUGIMOTO T, NABESHIMA T, TAKESHIMA H: Facilitation of long-term potentiation and memory in mice lacking nociceptin receptors. *Nature*, 394(6):577-581, 1998.
60. MENG F, TAYLOR LP, HOVERSTEN MT, UEDA Y, ARDATI A, REINSCHIED RK, MONSMA FJ, WATSON SJ, CIVELLI O, AKIL H: Moving from the orphanin FQ receptor to an opioid receptor using four point mutations. *J Biol Chem*, 271(50):32016-20, 1996.
61. MEUNIER J: Nociceptin/orphanin FQ and the opioid receptor like ORL1 receptor. *Eur Jour Pharmacol*, 340:1-15, 1997.
62. MEUNIER J-C, MOLLEREAU C, TOLL L, SUAUDEAU C, MOISAND C, ALVINERIE P, BUTOUR J-L, GUILLEMOT J-C, FERRERA P, MONSARRAT B, MAZARGULL H, VASSART G, PARMENTIER M, COSTENTIN J: Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL-1 receptor. *Nature*, 377:532-534, 1995.
63. MILLER-PEREZ C, BUCIO-PACHECO V, MUCIO-RAMIREZ S, ANTON B, LEON-OLEA M: Caracterización anatómica y funcional de la nociceptina-orfanina FQ en los ganglios periesofágicos del caracol *Helix aspersa*. Memorias del XX Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiol. y XLIII Congreso de la Soc. Mex.de Ciencias Fisiol. Res C96. 3-7 de septiembre, Cancún, Méx. 2000.
64. MINAMI T, OKUDA-ASHITAKA E, NISHIZAWA

- M, MORI H, ITO S: Inhibition of nociceptin-induced allodynia in conscious mice by prostaglandin D2. *Br J Pharmacol*, 122:605-610, 1997.
65. MINAMI T, HOSOI Y, TOYA T, KATAO Y, MAEKAWA K, KATSUMATA S, YABUCHI K, ONOGI T, SATOH M: In situ hybridization of κ -opioid receptor mRNA in the rat brain. *Neurosci Lett*, 162:161-164, 1993.
 66. MITSUMA T, NEBI R, MASATO K, KOSHI A, YUICHI M, TSUYOSHI N, JUNICHI S, JING P, YOSHIFUMI H: Distribution of orphanin FQ in the rat an immuno-histochemical study. *Med Sci Res*, 26:403-405, 1998.
 67. MOGIL J, GRISEL J, BELKNAP J, GRANDY D, REINSCHEID R, CIVELLI O: Orphanin FQ is a functional anti-opioid peptide. *Neuroscience*, 75:333-7, 1996.
 68. MOGIL J, GRISEL J, ZHANGS G, BELKNAP J, GRANDY D: Functional antagonism of mu, delta and kappa-opioid antinociception by orphanin FQ. *Neurosci Lett*, 214:131-4, 1996.
 69. MOLLEREAU C, PARMENTIER M, MAILLEUX P, BUTOUR L, MOISAND C, CHALON P, CAPUT D, VASSART G, MEUNIER J-C: ORL-1, a novel member of the opioid receptor family. Cloning functional expression, and localization. *FESB Lett*, 341:33-38, 1994.
 70. MOLLEREAU C, SIMONS M-J, SOULARUES P, LINERS F, VASSARY G, MEUNIER J-C, PARMENTIER M: Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:8666-8670, 1996.
 71. MONTIEL J, CORNILLE F, ROQUES B, NOBLE F: Nociceptin/orphanin FQ metabolism: role of the aminopeptidase and endopeptidase 24.15. *J Neurochem*, 68:354-361, 1997.
 72. MORAN T, ABDULLA F, SMITH P: Cellular neurophysiological actions of nociceptin/orphanin FQ. *Peptides*, 21:969-76, 2000.
 73. MUNEOKA Y, MORISHITA F, FURUKAWA Y, MATSUSHIMA O, KOBAYASHI M, OHTANI M, TAKAHASHI T, IWAKOSHI E, FUJISAWA Y, MINAKATA H: Comparative aspects of invertebrate neuropeptides. *Acta Biol Hung*, 51:111-32, 2000.
 74. MURPHY N, LY T, MAIDMENT N: Intracerebroventricular orphanin FQ/nociceptin suppresses dopamine release in the nucleus accumbens of anaesthetized rats. *Neuroscience*, 75:1-4, 1996.
 75. NABESHIMA T, NODA Y, MAMIYA T: The role of nociceptin in cognition. *Brain Res*, 848:167-173, 1999.
 76. NAKANISHI S, INOUE A, KITO T, NAKAMURA M, CHANG C, COHEN U, NUMA S: Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin- β -lipotropin precursor. *Nature*, 278:423-427, 1979.
 77. NEAL R, MANSOUR A, REINSCHEID R, NOTHACKER H, CIVELLI O, STANLEY J, WATSON SJ: Localization of orphanin FQ (nociceptin) peptide and messenger RNA in the central nervous system of the rat. *Comp Neurol*, 368:229-251, 1999.
 78. NISHI M, TAKESHIMA H, MORI M, NAKAGAWARA K, TAKEUCHI T: Structure and chromosomal mapping for the mouse κ -opioid receptor and an opioid receptor homologue (MOR-C). *Biochem Biophys Res Commun*, 205:1353-57, 1994.
 79. NOBLE F, ROQUES B: Association of aminopeptidase N and endopeptidase 24.15 inhibitors potentiate behavioral effects mediated by nociceptin/orphanin FQ in mice. *FESB Lett*, 401:227-229, 1997.
 80. NODA M, FURUTANI Y, TAKAHASHI H, TOYO-SATO M, HIROSE T, INAYAMA S, NAKANISHI S, NUMA S: Cloning and analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature*, 295:202-206, 1982.
 81. NORTH A, WILLIAMS J, SUPRENANT A, CHRISTIE J: Mu and delta receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84:5487-5491, 1987.
 82. NOTHACKER P, REINSCHEID K, MANSOUR A, HENNINGSEN A, ARDATI A, MONSMA J, WATSON SJ, CIVELLI O: Primary structure and tissue distribution of the orphanin FQ precursor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:8677-8682, 1996.
 83. OKUDA-ASHITAKA E, MINAMI T, TACHIBANA S, YOSHIRO Y, NISHIUCHI Y, KIMURA T, ITO S: Nocistatin, a peptide that blocks nociceptin action in pain transmission. *Nature*, 392(19):286-289, 1998.
 84. OLSON R, ABBA K: Endogenous opiates: a review. *Peptides*, 17:1421-1466, 1966.
 85. OSINSKI M, BROWN RD: Orphanin FQ/Nociceptin: a novel neuromodulator of gastrointestinal function? *Peptides*, 27:999-1005, 2000.
 86. PAN Y-X, XU J, PASTERNAK G: Cloning and expression of a cDNA encoding a mouse brain orphanin FQ/nociceptin precursor. *Biochem J*, 315:11-13, 1996.
 87. PEISER CH, UNDEM B, FISCHER A: Nociceptin effect in the airways. *Peptides*, 27:995-998, 2000.
 88. QUINGLEY D, McDOUGALL, DARLAND T, ZHANG G, RONNEKLIEV O, GRANDY D, ALLEN R: Orphanin FQ is the major OFQ¹⁻¹⁷ containing peptide produced in the rodent and monkey hypothalamus. *Peptides*, 19:113-139, 1998.
 89. REINSCHEID RK, ARDATI A, MONSMA FJ Jr, CIVELLI O: Structure-activity relationship studies on the novel neuropeptide orphanin FQ. *J Biol Chem*, 271(24):14163-8, 1996.
 90. REINSCHEID RK, HIGELIN J, HENNINGSEN RA, MONSMA FJ Jr, CIVELLI O: Structures that delineate orphanin FQ and dynorphin A pharmacological selectivities. *J Biol Chem*, 273(3):1490-1495, 1998.
 91. REINSCHEID K, NOTHACKER H-P, BUNZOW J-R, GRANDY K, LANGEN H, MONSAMA FJ Jr, CIVELLI O: Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioid-like G protein-coupled receptor. *Science*, 220:792-794, 1995.
 92. RIEDL M, SHUSTER S, VULCHANOVA L, WANG J, LOH HH, ELDE R: Orphanin FQ/nociceptin-immunoreactive nerve fibers parallel those containing endogenous opioids in rat spinal cord. *Neuroreport*, 7(8):1369-1372, 1996.
 93. ROSSI G, LEVENTHAL L, PASTERNAK G: Naloxone sensitive orphanin FQ-induced analgesia in mice. *Eur J Pharmacol*, 311: R7-R8, 1996.
 94. SAITO Y, MARUYAMA K, SAIDO T, SEIICHI K: N23K, a gene transiently up-regulated during neural differentiation, encodes a precursor protein for a newly identified neuropeptide nociceptin. *Biochem Biophys Res Commun*, 217(2):539-545, 1995.
 95. SANCHEZ-ALVAREZ M, ANTON B, SANCHEZ-ISLAS E, LEON-OLEA M: Distribution of orphanin FQ-like immunoreactivity in the periesophageal ganglia of the snail *Helix aspersa*. *Neurosci Abstr*, 23(1):980, 1997.
 96. SANDIN J, GEORGIEVA J, SHOTT P, OGREN S, TERENIUS L: Nociceptin/orphanin FQ microinjected into hippocampus impairs spatial learning in rats. *Eur J Neurosci*, 9:194-7, 1997.
 97. SAUNDERS SE, BURKE JF, BENJAMIN PR: Multimeric CREB-binding sites in the promoter regions of a family of G-protein-coupled receptors related to the

- vertebrate galanin and nociceptin/orphanin-FQ receptor families. *Eur J Neurosci*, 12(7):2345-2353, 2000.
98. SCHULZ S, MATTHIAS S, NUB D, GRAMSCH CH, VOLKER H: Nociceptin/orphanin FQ and opioid peptides show overlapping distribution but not colocalization in pain-modulatory brain regions. *Neuroreport*, 7:3021-5, 1996.
 99. STRAND F: *Neuropeptides: Regulators of Physiological Processes*. MIT Press, 658, Londres, 1999.
 100. STRATFORD T, HOLAHAN M, KELLEY A: Injections of nociceptin into nucleus accumbens shell or ventromedial hypothalamic nucleus increase food intake. *Neuroreport*, 8:423-426, 1997.
 101. TAYLOR F, DICKERSON A: Nociceptin/orphanin FQ. A new opioid, a new analgesic? *Neuroreport*, 8:65-70, 1998.
 102. TIAN J, XU W, ZHANG W, FANG Y, GRISEL J, MOGIL J, GRANDY D, JI-SHENG H: Involvement of endogenous orphanin FQ in electroacupuncture-induced analgesia. *Neuroreport*, 8(2):497-500, 1997.
 103. UHL G, CHILDERS S, PASTERNAK G: An opiate-receptor gene family reunion. *Trends Neurosci*, 17:89-93, 1994.
 104. VANDERAH T, RAFFA R, LASHBROOK J, BURRIT A, HRUBY V, FRANK P: Orphanin-FQ/nociceptin: lack of antinociceptive, hyperalgesic or allodynic effects in acute thermal or mechanical test following intracerebroventricular or intrathecal administration to mice or rats. *Eur J Pain*, 2: 267-280, 1998.
 105. WANG JB, JOHNSON PS, IMAI Y, PERSICO AM, OZENBERGER BA, EPPLER CM, UHL GR: cDNA cloning of an orphan opiate receptor gene family member and its splice variant. *FESB Lett*, 348:75-79, 1994.
 106. WANG JB, JOHNSON PS, PERSICO AM, HAWKINS AL, GRIFFIN CA, UHL GR: Human μ opiate receptor cDNA and genomic clones, pharmacologic characterization and chromosomal assignment. *FESB Lett*, 338:217-222, 1994.
 107. WICK MJ, MINNERATH SR, LIANA X, ELDE R, LAY PY, LOH HH: Isolation of a novel cDNA encoding a putative membrane receptor with high homology to the cloned mu, delta, and kappa receptors opioid. *Mol Brain Res*, 27:37-44, 1994.
 108. XU X, HAO J, WIESENFELD H: Nociceptin or antinociceptin: potent spinal antinociceptive effect of orphanin FQ/ nociceptin in the rat. *Neuroreport*, 7:2092-2094, 1996.
 109. YAKIMOVA K, PIERAU F: Nociceptin/orphanin FQ: effects on thermoregulation in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 21(5):345-52, 1999.
 110. YAMAMOTO T, NOZAKI-TAKAGUCHI N, SAKASHITA Y, KIMURA S: Nociceptin/orphanin FQ, role in nociceptive information processing. *Prog Neurobiol*, 57:527-35, 1999.
 111. YANG H, HEXUM T, COSTA E: Opioids in adrenal glands.
 112. YASUDA K, ESPINOSA R, TAKEDA J, KE B, BELL G: Localization of the kappa opioid receptor gene to human chromosome band 8q11.2. *Genomics*, 19:596-597, 1994.