

Wiebke Janson, Christoph Stein

Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Charité — Universitätsmedizin Berlin, Germany

Opioidy w analgezji obwodowej

Peripheral opioid analgesia

Streszczenie

Przez długi czas sądzono, że opioidy działają wyłącznie w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Jednak ostatnio coraz więcej jest doniesień o istnieniu receptorów opioidowych zlokalizowanych poza centralnym układem nerwowym, co sugerowałoby, że opioidy mogą działać przeciwbólowo na obwodzie. Działanie przeciwbólowe opioidów jest szczególnie nasilone w warunkach istnienia bolesnego procesu zapalnego, zarówno u zwierząt, jak i u ludzi. W procesie zapalnym receptory opioidowe są transportowane z komórek zwojowych korzeni grzbietowych do zakończeń obwodowych włókien czuciowych. W tym samym czasie komórki odpowiedzi immunologicznej, zawierające endogenne peptydy opioidowe, gromadzą się w obrębie tkanki zmienionej zapalnie. Bodźce środowiskowe, takie jak stres, czynniki wewnętrzne (np. czynnik uwalniający kortykotropinę oraz cytokiny), mogą uwalniać te peptydy opioidowe, umożliwiając ich interakcję z neuronalnymi receptorami opioidowymi, i powodować miejscową analgezję.

Zwiększenie syntezy endogennych opioidów w odpowiedzi na toczący się proces zapalny oraz uwalnianie endogennych opioidów z komórek odpowiedzi immunologicznej mogą stworzyć podstawy do rozwoju analgetyków działających obwodowo. Obecnie badania kliniczne koncentrują się na uzyskaniu nowych agonistów opioidów działających obwodowo, a także na sposobach stymulacji endogennego systemu przeciwbólowego w celu uzyskania jak najsilniejszego działania przeciwbólowego przy maksymalnej redukcji działań niepożądanych ze strony ośrodkowego układu nerwowego kojarzonych ze stosowaniem opioidów.

Słowa kluczowe: obwodowa opioidowa analgezja, zapalenie, egzogenna analgezja, endogenna analgezja, system nocyceptyna/ORL, endomorfiny, immunologiczna modulacja bólu

Abstract

Opioids have long been thought to act exclusively within the central nervous system. An increasing number of studies have recently reported the existence of opioid receptors outside the central nervous system and therefore suggested that opioids are also able to produce analgesic effects in the periphery. Such effects are particularly prominent under painful inflammatory conditions both in animals and in humans. During inflammatory processes opioid receptors are transported from dorsal root ganglia towards the peripheral sensory nerve endings. At the same time, immune cells containing endogenous opioid peptides accumulate within the inflamed tissue. Environmental stimuli (e.g. stress) as well as releasing agents (e.g. corticotropin releasing factor, cytokines) can liberate these opioid peptides to interact with the neuronal opioid receptors and elicit local analgesia.

The inflammation-induced activation of opioid production and the release of exogenous opioids from immune cells may lead to novel approaches for the development of peripherally acting analgesics. Clinical investigation now focuses on the development of new peripheral opioid agonists as well as on ways to stimulate the endogenous analgesic system in order to induce effective peripheral analgesia with a reduction in the central side effects typically associated with opioids.

Key words: peripheral opioid analgesia, inflammation, exogenous analgesia, endogenous analgesia, nociceptin/ORL system, endomorphins, immune modulation of pain

Adres do korespondencji (Address for correspondence): Wiebke Janson, MD

Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Charité — Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin Hindenburgdamm 30, D-12200 Berlin, Germany

tel. (+49) 30 8445 2731, faks (+49) 30 8445 4469

e-mail: wiebke.janson@charite.de



Polska Medycyna Paliatywna 2004, 3, 2, 119–130

Copyright © 2004 Via Medica, ISSN 1644–115X

Koncepcja obwodowej analgezji opioidowej

Przez długi czas sądzono, że opioidy działają wyłącznie w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. W ciągu ostatniej dekady opublikowano wiele doniesień o istnieniu receptorów opioidowych poza centralnym systemem nerwowym i sugerujących, że opioidy mogą wywoływać efekt przeciwbólowy również na obwodzie [1]. To działanie przeciwbólowe jest szczególnie nasilone w przypadkach istnienia bolesnego procesu zapalnego — zjawisko to obserwuje się zarówno u zwierząt, jak i u ludzi [2]. W międzyczasie zebrano dużo dowodów na to, że system immunologiczny odgrywa istotną rolę w kontroli bólu. W warunkach toczącego się procesu zapalnego receptory opioidowe są sukcesywnie transportowane wzdłuż aksonów z komórek zwojowych korzeni grzbietowych w kierunku zakończeń obwodowych nerwów czuciowych. Zatem zwiększona liczba receptorów opioidowych (wraz z innymi mechanizmami) prowadzi do lepszego działania przeciwbólowego egzogennie podawanych ligandów, np. morfiny, oraz endogennie występujących peptydów opioidowych. Te endogenne peptydy opioidowe pochodzą z komórek odpowiedzi immunologicznej, gromadzących się w obrębie zmienionej zapalnie tkanki. Bodźce środowiskowe (np. stres), jak również czynniki wewnętrzne (np. czynnik uwalniający kortykotropinę oraz cytokiny) mogą uwalniać te endogenne peptydy opioidowe w celu interakcji z receptorami opioidowymi zlokalizowanymi na neuronach. Efektem tego współdziałania jest endogenna opioidowa analgezja. Supresja systemu immunologicznego (np. poprzez napromieniowanie) albo blokowanie selektywnego wycięcia komórek odpowiedzi immunologicznej zawierających opioidy oraz zastosowanie antagonistów receptorów opioidowych mogą całkowicie znieść efekt przeciwbólowy.

Na podstawie powyższych informacji stwierdzono, że podczas procesu zapalnego nasila się nie tylko obwodowe działanie przeciwbólowe egzogennie podawanych opioidów. Mamy również do czynienia z endogennym wydzielaniem peptydów opioidowych z immunocytów. Działają one na obwodowe receptory opioidowe zlokalizowane na zakończeniach włókien czuciowych i wywołują efekt przeciwbólowy poprzez hamowanie pobudliwości tych włókien i/lub inhibicję uwalniania prozapalnych neuropeptydów [1].

Artykuł ten koncentruje się głównie na roli obwodowo występujących receptorów opioidowych w analgezji, ze szczególnym uwzględnieniem nowych koncepcji farmakologicznych sugerujących możliwości klinicznego zastosowania obwodowej analgezji opioidowej — zarówno egzogennej, jak i endogennej.

The concept of peripheral opioid analgesia

Opioids have long been thought to act exclusively within the central nervous system. During the last decade an increasing number of studies have reported the existence of opioid receptors outside the central nervous system and therefore suggested that opioids are also able to mediate their analgesic effects in the periphery [1]. These analgesic effects are particularly prominent under painful inflammatory conditions both in animals and in humans [2]. Meanwhile, evidence has accumulated suggesting that the immune system plays an important role in the control of pain. Under inflammatory conditions opioid receptors are progressively transported along the axon from dorsal root ganglia towards the peripheral sensory nerve endings. Here the increased number of opioid receptors (among other mechanisms) leads to improved analgesia of exogenously administered ligands, such as morphine, and of endogenously occurring opioid peptides. These endogenous opioid peptides are derived from immune cells that accumulate within the inflamed tissue. Environmental stimuli (e.g. stress) as well as releasing agents (e.g. corticotropin releasing factor, cytokines) can liberate these endogenous opioid peptides to interact with the neuronal opioid receptors. As a result, endogenous opioid analgesia occurs. Suppression of the immune system (e.g. by irradiation) or blockade of the selectin-dependent extravasation of opioid-containing immune cells as well as opioid receptor antagonists can abolish these effects.

On the basis of these findings, a current concept proposes that during inflammatory processes not only do the peripheral analgesic effects of exogenous opioids improve, but also endogenous opioid peptides can be secreted from immunocytes, occupy peripheral opioid receptors on sensory nerve endings and produce analgesia by inhibiting the excitability of these nerves and/or the release of proinflammatory neuropeptides [1].

This article focuses on the role of peripherally occurring opioid receptors in analgesia with special focus on novel pharmaceutical concepts for the clinical use of exogenous and endogenous peripheral opioid analgesia.

Characteristics of peripheral opioid receptors

Members of the opioid receptor family are classified as μ (MOR), δ (DOR) and κ (KOR) receptors [3]. They are part of a family of seven transmembrane guanine (G-) nucleotide-binding protein-coupled

Charakterystyka obwodowych receptorów opioidowych

Przedstawiciele rodziny receptorów opioidowych są klasyfikowani jako μ (MOR), δ (DOR) oraz κ (KOR) [3]. Stanowią część rodziny siedmiu transmembranowych receptorów sprzężonych z białkami poprzez nukleotydy guaninowe (G-). Trzy znane obecnie receptory opioidowe wykazują znaczącą zgodność strukturalną w swej budowie. Można je zidentyfikować zarówno w centralnym systemie nerwowym, jak i w obwodowych neuronach czuciowych. Ich obecność wykryto w komórkach zwojowych korzeni grzbietowych [4, 5], a także na centralnych [6] i obwodowych zakończeniach neuronów aferentnych (dosiebnych) zarówno u zwierząt [7–9], jak i u ludzi [10].

Charakterystyka farmakologiczna receptorów opioidowych występujących obwodowo jest bardzo podobna do tych znajdujących się w mózgu, co potwierdzają doświadczenia z saturacją i konkurencyjnością [8]. Trzy receptory opioidowe zostały sklonowane we wczesnych latach 90., poczynając od pochodzącego od myszy DOR [11, 12], a następnie MOR [13–16] i KOR [17–20]. Od tego czasu można wykryć obecność ich mRNA w komórkach zwojowych korzeni grzbietowych [21].

Na podstawie badań farmakologicznych postulowano istnienie kilku podtypów każdego receptora ($\mu_1, \mu_2; \delta_1, \delta_2; \kappa_1, \kappa_2, \kappa_3$), jednakże molekularne próby ich identyfikacji nie powiodły się [22, 23]. Sugeruje się, że te rzekome podtypy są wariantami połączeń lub innymi modyfikacjami potranslacyjnymi. Obecnie za pomocą eksperymentów klonowania udaje się wykazać istnienie pojedynczych receptorów każdego typu. Ponadto różne receptory opioidowe mają unikalne właściwości czynnościowe po oligomeryzacji [24].

Przypuszczano, że receptory opioidowe zlokalizowane na współczulnych neuronach pozazwojowych mogą brać udział w obwodowej analgezji [25], lecz dowody na to są kwestionowane [26]. Do dziś nie udało się wykryć obecności mRNA białek receptorów opioidowych w zwojach współczulnych [27]. Nie wykazano również obecności DOR w pozazwojowych neuronach współczulnych skóry, warg czy rogówki [28]. Chemiczna sympatektomia nie wpłynęła na ekspresję receptorów opioidowych zlokalizowanych w komórkach zwojowych korzeni grzbietowych [29] ani też na obwodowe antynocycetywne działanie ich ligandów na ból towarzyszący procesowi zapalnemu [30]. Reasumując, powyższe wyniki badań świadczą o tym, że pozazwojowe włókna współczulne nie odgrywają ważnej roli w analgezji obwodowej, dla którego mediatorami są opioidy.

The three known opioid receptors show extensive structural homologies. These could be identified not only in the central nervous system, but also in peripheral sensory neurons. Here they have been found on cell bodies in dorsal root ganglia [4, 5] as well as on central [6] and peripheral terminals of primary afferent neurons in animals [7–9] and in humans [10].

The pharmacological characteristics of these peripherally occurring receptors are very similar to those in the brain, as shown by saturation and competition experiments [8]. The three opioid receptors were cloned in the early 1990's, starting with the mouse DOR [11, 12], followed by MOR [13–16] and KOR [17–20]. Thereafter their mRNA could be detected in dorsal root ganglia [21].

While the existence of several subtypes of each receptor ($\mu_1, \mu_2; \delta_1, \delta_2; \kappa_1, \kappa_2, \kappa_3$) has been suggested on the basis of pharmacological studies, molecular attempts to identify these subtypes have not been successful [22, 23]. It has been suggested that the purported subtypes are splice variants or other posttranslational modifications. To date only one single receptor of each type could be detected by cloning experiments. Additionally, various opioid receptors show unique functional properties after oligomerisation [24].

Opioid receptors on sympathetic postganglionic neurons were also thought to contribute to peripheral opioid analgesia [25] but the evidence was questioned [26]. To date it has not been possible to find opioid receptor mRNA in sympathetic ganglia [27]. DOR could not be detected on sympathetic postganglionic neurons in skin, lip or cornea [28] and chemical sympathectomy changed neither the expression of opioid receptors in dorsal root ganglia [29] nor the peripheral antinociceptive effects of their ligands in inflammatory pain [30]. Taken together, these results indicate that postganglionic sympathetic neurons do not play a major role in opioid-mediated peripheral analgesia.

Immune cells also express opioid binding sites and opioid receptor transcripts [8, 31, 32]. Stimulatory as well as inhibitory modulation of immune cell proliferation and function (e.g. chemotaxis, cytokine production and mast cell degranulation) by opioids was reported [33]. However, the significance of these effects for the modulation of pain has not so far been investigated.

Analgesic effects of exogenously administered peripheral opioid agonists

After the discovery of peripherally expressed opioid receptors studies with locally applied exogenous

W komórkach odpowiedzi immunologicznej stwierdza się także obecność miejsc wiążących opioidy oraz transkrypty receptorów opioidowych [8, 31, 32]. Donoszono zarówno o stymulującym, jak i o hamującym wpływie opioidów na proliferację komórek odpowiedzi immunologicznej oraz na ich funkcje (np. chemotaksję, produkcję cytokin, degranulację komórek tucznych) [33]. Jednakże znaczenie wywieranego przez opioidy działania na proces modulowania bólu nie zostało do tej pory docenione.

Obwodowe działanie przeciwbólne egzogennych opioidów

Po odkryciu obwodowych receptorów opioidowych rozpoczęto badania nad miejscowym podaniem egzogennych agonistów opioidowych. Aby udowodnić działanie obwodowe leku, stosowano substancje, które nie przenikają przez barierę krew-mózg [34, 35], jak również dwa różne sposoby podawania leku — miejscowy i systemowy [36]. Ponieważ analgezja obwodowa uzyskiwana po miejscowym podaniu opioidów zależała od zastosowanej dawki, była stereospecyficzna, a także odwracalna poprzez zastosowanie naloksonu, wywnioskowano, że analgezja obwodowa jest w pełni zależna od receptorów opioidowych. Wszystkie trzy typy receptorów opioidowych są obecne w tkankach obwodowych i zależnie od okoliczności mogą pośredniczyć w wywoływaniu obwodowej analgezji [36].

Działanie przeciwbólne miejscowo stosowanych opioidów jest szczególnie silne w warunkach toczącego się procesu zapalnego. Jednym z prawdopodobnych mechanizmów tłumaczących to zjawisko jest istnienie zależnej od obecności stanu zapalnego zwiększonej ilości receptorów opioidowych na obwodzie. Receptory opioidowe są syntetyzowane w zwojach korzeni grzbietowych [27, 37] i w momencie wystąpienia stanu zapalnego na obwodzie dochodzi do bardzo nasilonego ich transportu aksonalnego do zakończeń włókien czuciowych [8, 38], co prowadzi do zwiększenia ich gęstości w tym miejscu. Innym prawdopodobnym wytłumaczeniem są zmiany zachodzące w środowisku tkanki zmienionej zapalnie (np. niskie pH), mające powodować większą siłę działania agonistów opioidowych. Powyższe wnioski oparto na spostrzeżeniu, że niskie pH zwiększa skuteczność działania agonistów opioidowych *in vitro* poprzez wpływ na interakcje receptorów opioidowych z białkami-G błon neuronalnych [39–42].

opioid agonists were performed. In order to prove a peripheral site of action, substances that did not cross the blood brain barrier [34, 35] were used as well as the local-versus-systemic application [36]. Because the peripherally evoked opioid analgesia showed dose-dependency, stereospecificity and reversibility with antagonists such as naloxone, it was concluded that it is strictly opioid receptor specific. All three opioid receptors are present in peripheral tissue and are able to mediate peripheral analgesia, depending on the particular circumstances [36].

The analgesic effects of locally administered opioids are particularly prominent under inflammatory conditions. One possible explanation for this phenomenon is the inflammation-dependent upregulation of opioid receptors in the periphery. Opioid receptors are synthesised in dorsal root ganglia [27, 37] and, after induction of peripheral inflammation, their axonal transport to the nerve endings is strongly enhanced [8, 38]. This leads to an increase in their density on peripheral nerve terminals. Another explanation can be changes in the local milieu of the inflamed tissue (e.g. low pH) that lead to a possible increase in opioid agonist action. This is based on the observation that low pH increases opioid agonist efficacy *in vitro* by altering the interaction of opioid receptors with G-proteins in neuronal membranes [39–42].

In inflamed tissue opioid agonists also have easier access to their receptors due to disruption of the perineurium, which under normal conditions protects the nerve fibre and is fairly impermeable [43]. Additionally, the number of sensory nerve terminals and therefore the number of opioid ligand-binding sites increases under inflammatory conditions due to a phenomenon called “sprouting” [44].

There are thus several possible explanations for the improved efficacy of peripherally administered opioids in inflammation.

Clinical applications of peripheral opioid analgesia with exogenously administered agonists

A growing number of investigations have transferred findings from *in vitro* and animal studies into the clinical setting. Subcutaneously injected morphine (1–2 mg) increases heat- and pressure-pain thresholds in second-degree burn injury [45], and also inhibits capsaicin-induced mechanical hypersensitivity [46]. A recent study in dental surgery patients revealed that inflammation is advantageous for the effectiveness of peripheral opioid analgesia as seen in animal models [47]. Other routes of administration include the perineural, intraabdominal,

W obrębie zmienionej zapalnie tkanki agoniści opioidów mają również łatwiejszy dostęp do swoich receptorów wskutek przerwania osłonki nerwowej, które w warunkach zdrowia jest raczej nieprzepuszczalne i chroni włókno nerwowe [43]. Dodatkowo w przypadku istnienia procesu zapalnego zwiększa się liczba zakończeń włókien czuciowych, co prowadzi do wzrostu liczby miejsc wiążących ligandy opioidowe (dzięki procesowi zwanemu „kielkowaniem”) [44].

Zatem istnieje kilka możliwych sposobów wyjaśnienia przyczyn zwiększonej skuteczności działania przeciwbólowego stosowanych obwodowo opioidów w przypadku współistnienia procesu zapalnego.

Kliniczne znaczenie obwodowej egzogennej analgezji opioidowej

Obecnie coraz więcej jest badań, w których wyniki uzyskiwane *in vitro* lub na modelach zwierzęcych przenosi się do środowiska klinicznego. Podskórnie podawana morfina (1–2 mg) zwiększa progi odczuwania bólu dla ciepła i ciśnienia w przypadku oparzenia drugiego stopnia [45], a także hamuje nadwrażliwość na bodźce mechaniczne indukowane przez kapsaicynę. [46]. W najnowszym badaniu przeprowadzonym u pacjentów hospitalizowanych na oddziale chirurgii szczękowej wykazano, że istnienie procesu zapalnego jest korzystne w aspekcie zwiększonej skuteczności opioidowej analgezji obwodowej, podobnie jak to się dzieje u zwierząt [47]. Inne drogi podania leku to okołonerwowa, dootrzewnowa i dooczdolowa oraz miejscowa infiltracja rany za pomocą opioidów [48]. W wielu badaniach wykorzystywano model bólu pooperacyjnego po zabiegu chirurgicznym na stawie kolanowym, podczas którego w celu złagodzenia bólu podawano morfinę dostawowo. Wykazano, że znieczulenie obwodowe uzyskiwane w tym modelu zależało jedynie od receptorów opioidowych (reakcja swoista dla tych receptorów) [49] i miało podobny potencjał przeciwbólowy jak miejscowo znieczulające leki [50]. Obserwowano, że osoczowe stężenia morfiny po jej podaniu dostawowym nie były wystarczająco wysokie, by wywołać analgezję typu centralnego, wykluczając przez to możliwość działania systemowego [51]. W dwóch najnowszych przeglądach doniesień wykazano, że morfina podana dostawowo utrzymuje swe skuteczne działanie przeciwbólowe przez pierwsze 24–30 godzin od wykonania zabiegu artroskopii stawu kolanowego [52, 53]. Można też podawać morfinę dopęcherzowo (w dawce 0,05 i 0,5 mg/ml) po zabiegach chirurgicznych na pęcherzu moczowym, uzyskując znaczący, zależny od dawki, efekt przeciwbólowy [54].

orbital and topical wound infiltration with opioids [48]. A large number of studies have used the model of postoperative pain after knee surgery, where morphine was injected intraarticularly. Peripheral analgesia in this model was shown to be opioid-receptor-specific [49] and of similar potency to local anaesthetics [50]. Plasma levels of morphine after intraarticular injection were not high enough for central analgesic action, so that systemic effects were excluded [51]. Two recent systematic reviews revealed that intraarticular morphine has definite analgesic effects in the first 24-30 hours after knee arthroscopy [52, 53]. Morphine (0.05 and 0.5 mg/ml) can also be administered intravesically after bladder surgery with significant, dose-dependent analgesic effects [54].

Characteristics of endogenous opioid peptides and their role in analgesia

Many studies show that potent peripheral opioid analgesia can result from the interaction between endogenous opioids derived from immune cells and peripheral opioid receptors [2, 9, 55, 56]. Three precursor proteins for the “classical” endogenous opioid peptides were cloned [57–59]: proopiomelanocortin (POMC), prodynorphin (PDYN), and proenkephalin (PENK). PENK is the source of enkephalins (ENK) and several longer peptides, PDYN codes for dynorphin A and B (DYN), α - and β -neoendorphin and several larger proteins, and POMC is the precursor of α - and β -endorphin (END) and several non-opioid peptides such as MSH and ACTH.

These opioid peptides are the natural ligands for μ (END; ENK), δ (ENK; END) and κ (DYN) opioid receptors. These peptides have been found in brain regions and in immune cells [2] and can be released in order to control pain [60, 61]. In inflamed tissue the mRNAs for END and ENK and their transcripts are found within lymphocytes, monocytes and macrophages. Recently it has been shown that immune cells express the entire machinery required for POMC processing into functionally active peptides such as END and that they are able to release the peptides from secretory granules [62]. In early inflammation it is mainly granulocytes that produce opioid peptides, while later on monocytes and possibly lymphocytes become their main source [63]. Environmental stress as well as releasing agents (e.g. corticotropin releasing factor, cytokines) can liberate these opioid peptides and elicit local analgesia. Afterwards the depleted leucocytes travel to the regional

Charakterystyka endogennych peptydów opioidowych i ich rola w analgezji

W wielu badaniach wykazano, że uzyskanie silnej obwodowej analgezji może być wynikiem interakcji pomiędzy endogennymi opioidami pochodzącymi z komórek odpowiedzi immunologicznej a obwodowymi receptorami opioidowymi [2, 9, 55, 56]. Udało się sklonować trzy białka prekursorowe dla „klasycznych” endogennych peptydów opioidowych [57–59]: proopiomelanokortynę (POMC), prodynorfinę (PDYN) oraz proenkefalinę (PENK). Proenkefalina jest źródłem enkefalin (ENK) i kilku dłuższych peptydów, PDYN jest substratem dla dynorfiny A i B (DYN), α - i β -neendorfin oraz kilku większych białek, a POMC jest prekursorem α - i β -endorfin (END) oraz kilku nieopiodowych peptydów, takich jak MSH czy ACTH.

Te opiodowe peptydy są naturalnymi ligandami dla receptorów opiodowych: μ (END; ENK), δ (ENK, END) i κ (DYN). Peptydy te wykryto w mózgu i w komórkach odpowiedzi immunologicznej [2] i mogą być one uwalniane w celu kontrolowania bólu [60, 61]. W zmienionej zapalnie tkance można wykryć obecność mRNA dla END oraz dla ENK i ich transkrypty w obrębie nagromadzonych komórek nacieku zapalnego — limfocytów, monocytów i makrofagów. Wykazano ostatnio, że komórki odpowiedzi immunologicznej zawierają wszystkie mechanizmy niezbędne do przekształcenia POMC w aktywne peptydy, takie jak END, i mogą uwalniać te peptydy z ziarnistości wydzielniczych [62]. We wczesnej fazie zapalenia granulocyty są głównymi producentami peptydów opioidowych, później monocyty i prawdopodobnie limfocyty stają się zasadniczym miejscem ich syntezy [63]. Stres środowiskowy, jak również czynniki uwalniające (np. czynnik uwalniający kortykotropinę, cytokiny) mogą powodować uwalnianie peptydów opioidowych i wywoływać miejscową analgezję. Następnie pozbawione rezerw limfocyty są transportowane do regionalnych węzłów chłonnych [60]. Obecność molekuł adhezyjnych odgrywa znaczącą rolę w migracji tych komórek. Wyznaczenie powoduje aktywację molekuł adhezyjnych, które początkowo wywołują zwolnienie krążenia komórek odpowiedzi immunologicznej i ich zbijanie się „w rulony” na powierzchni śródbłonka. Mediatorami tego procesu są selektyny obecne na leukocytach (L-selektyny) oraz na komórkach endotelium (P- oraz E-selektyny). Następnie pod wpływem działania chemokin dochodzi do zwiększenia ilości integryn, które są odpowiedzialne za ścisłą adhezję komórek do powierzchni endotelium. Przerwanie tej kaskady poprzez podanie fukoidyny, bę-

lymph nodes [60]. Adhesion molecules play an important role in the migration of these cells: Extravasation involves the activation of adhesion molecules, which initially cause the slowing down of circulating immune cells and their “rolling” on vascular endothelium, mediated by selectins on leucocytes (L-selectins) and on endothelial cells (P- and E- selectins). Chemokines then lead to an upregulation of integrins which cause a firm adhesion of the cells to the endothelial wall. Interruption of this cascade by fucoidin, a selectin blocker, was shown to inhibit immune cell migration into inflamed tissue. Additionally, the number of END-containing cells and of END content in inflamed tissue was significantly decreased, resulting in decreased analgesia [64]. Taken together, these findings indicate the importance of the role of the immune system, not only in fighting pathogens but also in controlling pain in injured tissue.

Recently, a novel group of opioid-receptor ligands has been discovered in the brain. This group consists of endomorphin-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) and endomorphin-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂). Both endomorphins show a characteristic atypical structure and high selectivity for MOR [65, 66]. Endomorphin-1 is mainly found in the brain and endomorphin-2 in the spinal cord. Endomorphins inhibit nociceptive transmission in the spinal cord through MOR activation [67]. A recent study has shown that under inflammatory conditions MOR and its endogenous ligands endomorphin-1 and endomorphin-2 are upregulated in immunocytes [68]. These findings suggest the involvement of this novel group of opioid peptides also in the peripheral control of inflammatory pain.

Another peptide family, the nociceptins, acts on opioid-receptor-like (ORL-) receptors [69, 70]. The ORL1 receptor is present in neurons distinct from those containing μ opioid receptors at various levels of the neuroaxis [71]. The exact role of the nociceptin/ORL receptor system in pain transmission still remains unclear, but this new ligand-receptor system has generated active interest because of its wide distribution and involvement in many neurological pathways [72, 73]. The recent synthesis of the non-peptide agonist Ro-64-6198 as well as of the non-peptide antagonists JTC-801 and J-113397 may allow further insight into the physiological role of the ORL-system [73, 74].

Taken together, the role of immune cell-derived “classical” opioid peptides END, ENK and DYN in peripheral opioid analgesia seems to be established. The role of endomorphins and the nociceptin/ORL system is not yet understood.

dając blokerem selektywny, prowadzi do hamowania migracji komórek odpowiedzi immunologicznej do tkanki objętej procesem zapalnym. Ponadto obserwuje się istotną redukcję liczby komórek zawierających END oraz spadek całkowitej zawartości END w obrębie tkanki zmienionej zapalnie. Rezultatem powyższych zjawisk jest zmniejszenie siły działania przeciwbólowego [64]. Reasumując, powyższe doniesienia potwierdzają fakt, że układ immunologiczny odgrywa zasadniczą rolę nie tylko w procesie zwalczania patogenów, ale jest również istotny w kontroli bólu w obrębie uszkodzonej tkanki.

Ostatnio wykazano w mózgu obecność nowej grupy ligandów dla receptorów opioidowych. Należy do niej endomorfina-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) i endomorfina-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂). Obie endomorfiny mają charakterystyczną atypową budowę i cechuje je wysoka selektywność dla MOR [65, 66]. Endomorfina-1 znajduje się głównie w mózgu, a endomorfina-2 przede wszystkim w rdzeniu kręgowym. Endomorfiny są inhibitorami nocycetywnego transmisji w obrębie rdzenia kręgowego poprzez aktywację MOR [67]. W przeprowadzonych ostatnio badaniach wykazano, że w warunkach toczącego się procesu zapalnego dochodzi do zwiększenia ilości MOR i jego endogennych ligandów (endomorfina-1 i endomorfina-2) w immunocytach [68]. Odkrycia te sugerują udział powyżej opisanej nowej grupy peptydów w obwodowej kontroli bólu wywołanego procesem zapalnym.

Inna rodzina peptydów, nocycetyny, działa na receptory opioido-receptoro-podobne (ORL-receptory) [69, 70]. Wykazano obecność receptora ORL1 na neuronach odległych od tych, które zawierają receptor opioidowy μ , na różnych poziomach ośrodkowego układu nerwowego [71]. Dotychczas nie wyjaśniono dokładnej roli systemu nocycetyna/receptor ORL w przekazywaniu bólu, jednak ten nowo odkryty system (ligand/receptor) budzi duże zainteresowanie ze względu na swoje rozpowszechnienie i zaangażowanie w wiele procesów przekazywania nerwowego [72, 73]. Zakończona ostatnio sukcesem synteza niebiałkowego agonisty Ro-64-6198, a także niebiałkowego antagonisty JTC-801 i J-113397 mogą zapewnić lepsze zrozumienie fizjologicznej roli systemu ORL [73, 74].

Reasumując, rola „klasycznych” peptydów opioidowych pochodzących z komórek odpowiedzi immunologicznej (takich jak END, ENK i DYN) w wywoływaniu obwodowej analgezji jest już ugruntowana, natomiast znaczenie endomorfina i systemu nocycetyna/ORL jest ciągle niejasne i wymaga dalszych badań.

Clinical implications of peripheral endogenous opioid analgesia

A study in patients who had undergone knee arthroscopy showed that pain increases after blocking the action of immune cell-derived opioid peptides using the intraarticularly injected opioid antagonist naloxone [36]. Immune-derived endogenous opioids might also be of importance in painful diseases accompanied by immunosuppression, including cancer or AIDS [75, 76]. Furthermore, polyneuropathic pain in patients suffering from AIDS has been inversely correlated with reduction in CD4+ lymphocytes [77] as well as with reduced intraepidermal nerve fibre density [78]. In a rat model a decrease in lymphocytes due to immunosuppression by cyclosporine A produced complete inhibition of endogenous (stress-induced) peripheral opioid analgesia [60, 79].

Even though these findings underline the existence of mechanisms producing peripheral endogenous analgesia in humans, clinical experience shows that this form of analgesia is rarely sufficient in patients. One potential clinical use of the endogenous opioid system would be to improve its efficacy by selectively stimulating opioid producing immune cells. The first experimental approaches are being made in this direction using gene therapy: In rat sensory neurons the synthesis, transport and peripheral release of enkephalins can be enhanced by herpes virus-derived vectors containing proenkephalin cDNA, leading to a decrease in pain and inflammation in a model of polyarthritic rats [80]. Additionally, POMC cDNA was successfully transfected by a non-viral gun system into rat skin, resulting in increased tissue levels of β -endorphin and a tendency to decrease acute inflammatory pain [81]. These approaches have not yet been used in clinical settings in humans.

Side effects of peripheral opioid analgesia

An extremely intriguing feature of peripheral opioid analgesia is the lack of the well-known central side effects of systemically administered opioids, e.g. drowsiness, nausea, constipation, dependence, addiction, respiratory depression and tolerance (= loss of analgesic efficacy after repeated or continuous application of opioid agonists). These side effects can restrict the therapeutic use of centrally acting opioids. Initial hints in animal models without inflammation have suggested that tolerance development is possible not only at central but

Kliniczne implikacje obwodowej endogennej analgezji opioidowej

W badaniu obejmującym grupę pacjentów, u których wykonano artroskopię stawu kolanowego, wykazano narastanie bólu w przypadku zablokowania działania peptydów opioidowych wywodzących się z immunocytów poprzez dostawowe podanie naloksonu (antagonisty opioidów) [36]. Endogenne opioidy pochodzące z komórek odpowiedzi immunologicznej mogą mieć duże znaczenie w bolesnych chorobach, którym towarzyszy immunosupresja (np. choroba nowotworowa czy AIDS) [75, 76]. Ponadto, polineuropatyczny ból u pacjentów chorych na AIDS wykazuje odwrotną korelację zarówno do zmniejszenia się liczby CD4+ limfocytów [77], jak i do zmniejszenia się gęstości śródnaskórkowych włókien nerwowych [78]. Na modelu szczurzym wykazano, że zmniejszenie liczby limfocytów spowodowane immunosupresją po podaniu cyklosporyny A powoduje całkowite zahamowanie endogennej (wywoływanej stresem) obwodowej analgezji opioidowej [60, 79].

Chociaż powyższe doniesienia podkreślają istnienie mechanizmów odpowiedzialnych za wywoływanie obwodowej endogennej analgezji u ludzi, kliniczne doświadczenia pokazują, że ta forma analgezji u ludzi rzadko jest wystarczająca. Jednym z potencjalnych klinicznych sposobów wykorzystania endogenego systemu opioidowego jest możliwość zwiększenia jego skuteczności poprzez wybiórczą stymulację komórek odpowiedzi immunologicznej, produkujących opioidy. Podejmowane są pierwsze eksperymentalne próby w tym kierunku z wykorzystaniem terapii genowej: we włóknach czuciowych szczurów synteza, transport oraz obwodowe uwalnianie enkefalin mogą zostać wzmożone przez wektory pochodzące z wirusów Herpes, zawierających cDNA proenkefalin. Prowadzi to w efekcie do zmniejszenia bólu i ograniczenia procesu zapalnego w szczurzym modelu zapalenia wielostawowego (*polyarthritis*) [80]. Dodatkowo, udało się również transfekcja cDNA POMC do skóry szczura poprzez niewirusowy system wprowadzającej. W rezultacie obserwowano zwiększenie tkankowego stężenia β -endorfin oraz zmniejszenie nasilenia ostrego bólu towarzyszącego zapaleniu [81]. Powyższe podejście do problemu bólu nie zostało jeszcze sprawdzone w warunkach klinicznych u ludzi.

Działania uboczne obwodowej analgezji opioidowej

Szczególnie intrygującą cechą obwodowej opioidowej analgezji jest brak znanych efektów ubocznych pochodzenia systemowego, charakterystycz-

also at peripheral opioid receptors [82]. However, since the number, the affinity and the coupling efficacy of opioid receptors is significantly enhanced during inflammatory conditions, conclusions concerning peripheral opioid analgesia in inflamed tissue can not be drawn from such studies.

Recent studies in an inflammation model in mice now postulate a lack of tolerance for peripherally active opioid agonists [83–85]. These results are underlined by a clinical study where no cross-tolerance between local morphine- and endogenous opioid-induced analgesia could be detected [10]. Further studies are needed for a definite statement concerning tolerance development in peripheral opioid analgesia.

Another interesting feature of peripherally administered opioids is their potential for antiinflammatory activity. For example, opioids are able to inhibit neurogenic inflammation by decreasing substance P-release from peripheral terminals of primary afferent neurons, and opioid receptors on immune cells can modulate lymphocyte function and inhibit the synthesis and/or the release of cytokines [86]. In a recent study locally administered endomorphin-1 reduced carageenan-induced oedema [87], the vascular response to electrical stimulation as well as substance P-induced vasodilation and plasma extravasation in the rat [88]. Two novel peripherally selective κ agonists were able to reduce paw volume and histological signs of inflammation in the rat [89]. These findings could be confirmed in a clinical setting: In patients with chronic arthritis, the number of inflammatory cells in the synovial fluid significantly decreased after intraarticular injection of morphine [90]. On the other hand, non-opioid proinflammatory effects of morphine were reported [91].

Taken together, there seems to be good evidence that peripherally active μ - and κ -agonists have antiinflammatory activity. This underlines their potential therapeutic importance in inflammatory pain, as they do not only act as analgesics, but also as antiinflammatory drugs.

Future implications for peripheral analgesia — new concepts for the exogenous application of drugs and stimulation of the endogenous system

The inflammation-induced activation of opioid production and the release of endogenous opioids from immune cells may be a novel approach for the development of peripherally acting analgesics without the unwanted central side effects typically associated with opioids.

nych dla opioidów działających systemowo — takich jak nadmierna senność, nudności, zaparcia, uzależnienie, depresja układu oddechowego, a także rozwój tolerancji (utrata skuteczności działania przeciwbólowego leku po powtarzanych lub ciągłym podawaniu agonistów opioidów). Istnienie powyższych objawów ubocznych ogranicza wykorzystanie terapeutyczne działających centralnie opioidów. Początkowo na podstawie sugestii opierających się na doświadczeniach przeprowadzonych na zwierzętach twierdzono, że w przypadkach, w których nie ma się do czynienia z procesem zapalnym, możliwy jest rozwój tolerancji nie tylko dla centralnych, ale również i dla obwodowych receptorów opioidowych [82]. Niemniej jednak odkąd potwierdzono, że w warunkach toczącego się procesu zapalnego znacząco wzrasta liczba receptorów, zwiększa się powinowactwo do receptora i występuje zwiększona zdolność do wiązania się z receptorem, wnioski dotyczące obwodowej analgezji opioidowej nie mogą już być formułowane na podstawie takich badań.

W najnowszych badaniach przeprowadzonych na modelu mysim w przypadku współistniejącego zapalenia postuluje się brak zjawiska tolerancji dla agonistów opioidowych aktywnych obwodowo [83–85]. Te doniesienia potwierdza badanie kliniczne, w którym wykazano brak krzyżowej tolerancji pomiędzy znieczuleniem osiągniętym poprzez miejscowe stosowanie morfiny a analgezą wywołaną przez endogenne opioidy [10]. Konieczne będzie przeprowadzenie dalszych badań w celu wydania ostatecznego osądu dotyczącego możliwości rozwoju tolerancji w przypadku obwodowej analgezji opioidowej.

Inną ciekawą cechą obwodowo podawanych opioidów jest ich potencjał przeciwzapalny. Na przykład, opioidy mogą hamować zapalenie neurogenne poprzez zmniejszone uwalnianie substancji P z obwodowych zakończeń neuronów dosiebnych. Receptory opioidowe obecne na komórkach odpowiedzi immunologicznej mogą wpływać na funkcję limfocytów oraz hamować syntezę i/lub uwalnianie cytokin [86]. W jednym z najnowszych badań miejscowe podanie endomorfiny-1 spowodowało zmniejszenie obrzęku wywołanego przez karagenian [87], zmniejszenie odpowiedzi naczyniowej na bodźce elektryczne, a także wywołanej przez substancję P wazodylatacji oraz wynaczynienia osocza u szczurów [88]. Podanie dwóch nowych selektywnych obwodowo agonistów receptorów κ przyczyniło się do zmniejszenia obrzęku łąki szczura oraz histologicznych cech zapalenia [89]. Doniesienia te potwierdzono w obserwacjach klinicznych — u pacjentów z przewlekłym zapaleniem stawów liczba komórek zapalnych obecnych w płynie maziowym znacząco

Clinical investigation is now focusing on the development of new peripheral opioid agonists and on ways to stimulate the endogenous analgesic system. Loperamide, a drug originally known as an antidiarrhoeal agent, was recently presented as such a peripherally active, antihyperalgesic μ -agonist in a model of thermal injury [85]. Probably due to loperamide's high affinity to lipids, it accumulates in membranes and is not systemically absorbed [92]. Loperamide shows high affinity and selectivity for the cloned MOR, and it is locally active in different inflammation models in rats [92].

Yet another approach is based on the inclusion of hydrophilic as well as hydrophobic properties in molecules, which then preserve both peripheral selectivity and high antinociceptive potency [84]. Asimadoline (EMD61753) is an example for this concept; it acts as a potent and selective κ -agonist with restricted ability to cross the blood-brain-barrier after systemic administration. However, even though asimadoline was well tolerated and rapidly absorbed into the blood in healthy volunteers, oral application of this drug was ineffective in patients with postoperative pain [86]. Recently, new peptidic kappa-ligands were identified by positional scanning of a tetrapeptide combinatorial library screened in opioid receptor radioligand assays [93]. These peptides all exhibit a high selectivity for KOR and they are potent and selective peripheral ligands *in vivo*. Two members (FE200665 and FE200666) have now been shown to be peripherally selective agonists with potent analgesic and antiinflammatory effects [89]. There is tremendous interest in the development of nonpeptide ORL ligands as novel analgesics [76]. Whether these substances can be used as peripheral analgesics needs to be investigated.

These investigations demonstrate that conventional as well as novel opioid and ORL agonists and antagonists exist for local administration. Endogenous opioid analgesia can theoretically be stimulated either by an increase in the number of opioid peptide-producing immunocytes or by an increase in the production and/or the release of opioid peptides from these cells. As their site of action is strictly limited to the periphery, these analgesics should lack the unwanted central side effects typically associated with opioids.

Piśmiennictwo

1. Stein C. The control of pain in peripheral tissue by opioids. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1685–1690.
2. Stein C., Machelska H., Schäfer M. Peripheral analgesic and antiinflammatory effects of opioids. *Z. Rheumatol.* 2001; 60: 416–424.
3. Atcheson R., Lambert D.G. Update on opioid receptors. *Br. J. Anaesth.* 1994; 73: 132–134.

maleje po dostawowym podaniu morfiny [90]. Z kolei są też doniesienia o prozapalnych skutkach podawania morfiny [91].

Reasumując, wydaje się, że istnieją dostatecznie mocne dowody na to, że działający obwodowo agoniści receptorów μ i κ charakteryzują się aktywnością przeciwzapalną. Zwiększa to ich potencjalne terapeutyczne znaczenie w zwalczaniu bólu towarzyszącego procesowi zapalnemu, ponieważ działają one nie tylko przeciwbólowo, ale również przeciwzapalnie.

Perspektywy obwodowej analgezji — nowe koncepcje egzogenego podawania leków i stymulacji endogenego systemu przeciwbólowego

Aktywacja produkcji opioidów wywołana procesem zapalnym oraz uwalnianie endogennych opioidów przez komórki odpowiedzi immunologicznej mogą stworzyć podstawy rozwoju nowych działających obwodowo analgetyków, niewywołujących niepożądanych działań ubocznych kojarzonych do tej pory ze stosowaniem opioidów.

Badania kliniczne koncentrują się obecnie na uzyskaniu nowych agonistów opioidowych działających obwodowo oraz na metodach pobudzania endogenego systemu przeciwbólowego. Loperamid, który znany jest ze swego działania przeciwbiegunkowego, ostatnio prezentowany jako aktywny obwodowo, agonista receptora μ , znoszący hiperalgezę w modelu uszkodzenia termicznego [85]. Prawdopodobnie dzięki swemu wysokiemu powinowactwu do lipidów gromadzi się w błonach i nie jest wchłaniany systemowo [92]. Loperamid wykazuje wysokie powinowactwo i selektywność w stosunku do sklonowanego MOR, jest aktywny miejscowo w różnych modelach zapalenia u szczurów [92].

Inną możliwością jest połączenie w obrębie cząsteczki właściwości hydrofilnych i hydrofobowych, dzięki czemu zachowuje ona zarówno obwodową selektywność, jak i wysoki potencjał antynocycetywny [84]. Przykładem ilustrującym tę koncepcję jest asimadolina (EMD61753) — działa jako silny i wybiórczy κ -agonista, a po podaniu systemowym ma ograniczoną zdolność przechodzenia przez barierę krew-mózg. Jednak mimo że asimadolina była dobrze tolerowana i szybko wchłaniana do krwiobiegu po zastosowaniu u zdrowych ochotników, doustne podanie tego leku okazało się nieskuteczne u pacjentów z bólem poopercyjnym [86]. Ostatnio zidentyfikowano nowe białkowe κ -ligandy dzięki pozycyjnemu skanowaniu tetrapeptydowych wiązań zapisanych w analizie radiologicznej receptorów opioidowych [93]. Wszystkie te peptydy wykazują

- Ji R.R., Zhang Q., La, P.Y., Low H.H., Elde R., Hökfelt T. Expression of μ -, δ -, and κ -opioid receptor-like immunoreactivities in rat dorsal root ganglia after carrageenan-induced inflammation. *J. Neurosci.* 1995; 15: 8156–8166.
- Mansour A., Hoversten M.T., Taylor L.P., Watson S.J., Akil H. The cloned μ , δ and κ receptors and their endogenous ligands: evidence for two opioid peptide recognition cores. *Brain Res.* 1995; 700: 89–98.
- LaMotte C., Pert C.B., Snyder S.H. Opiate receptor binding in primate spinal cord: distribution and changes after dorsal root section. *Brain Res.* 1976; 112: 407–412.
- Coggeshall R.E., Zhou S., Carlton S.M. Opioid receptors on peripheral sensory axons. *Brain Res.* 1997; 764: 126–132.
- Hassan A.H.S., Ableitner A., Stein C., Herz A. Inflammation of the rat paw enhances axonal transport of opioid receptors in the sciatic nerve and increases their density in the inflamed tissue. *Neurosci* 1993; 55: 185–195.
- Stein C., Hassan A.H.S., Przewlocki R., Gramsch C., Peter K., Herz A. Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 5935–5939.
- Stein C., Pflüger M., Yassouridis A. i wsp. No tolerance to peripheral morphine analgesia in presence of opioid expression in inflamed synovia. *J. Clin. Invest.* 1996; 98: 793–799.
- Evans C.J., Keith D.E., Morrison H., Magendzo K., Edwards R.H. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science* 1992; 258: 1952–1955.
- Kieffer B.L., Befort K., Gavériaux-Ruff C., Hirth C.G. The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 12048–12052.
- Chen Y., Mestek A., Liu J., Hurley J.A., Yu L. Molecular cloning and functional expression of a μ -opioid receptor from rat brain. *Mol. Pharmacol.* 1993a; 44: 8–12.
- Chen Y., Mestek A., Liu J., Yu L. Molecular cloning of a rat κ opioid receptor reveals sequence similarities to the μ and δ opioid receptors. *Biochem. J.* 1993b; 295: 625–628.
- Fukuda K., Kato S., Mori K., Nishi M., Takeshima H. Primary structures and expression from cDNAs of rat opioid receptor delta- and μ -subtypes. *FEBS Lett.* 1993; 327: 311–314.
- Thompson R.C., Mansour A., Akil H., Watson S.J. Cloning and pharmacological characterization of a rat μ opioid receptor. *Neuron* 1993; 11: 903–913.
- Li S., Zhu J., Chen C. et al. Molecular cloning and expression of a rat κ opioid receptor. *Biochem. J.* 1993; 295: 629–633.
- Meng F., Xie G.X., Thompson i wsp. Cloning and pharmacological characterization of a rat κ opioid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90: 9954–9958.
- Minami M., Toya T., Katao Y. i wsp. Cloning and expression of a cDNA for the rat κ -opioid receptor. *FEBS Lett.* 1993; 329: 291–295.
- Nishi M., Takeshima H., Fukuda K., Kato S., Mori K. cDNA cloning and pharmacological characterization of an opioid receptor with high affinities for κ -subtype-selective ligands. *FEBS Lett.* 1993; 330: 77–80.
- Mansour A., Fox C.A., Burke S. i wsp. μ , δ , and κ opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study. *J. Comp. Neurol.* 1994; 350: 412–438.
- Koch T., Schulz S., Schroder H., Wolf P., Raulf E., Holtt V. Carboxyl-terminal splicing of the rat μ opioid receptor modulates agonist-mediated internalization and receptor resensitization. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 13652–13657.

wysoką selektywność dla KOR i *in vivo* są silnymi i wybiórczymi ligandami dla tego receptora. Wykazano, że dwaj przedstawiciele tej grupy (FE200665 i FE200666) to obwodowi wybiórczy agoniści o silnych właściwościach przeciwbólowych i przeciwwzpalnych [89]. Ogromne zainteresowanie budzi obecnie rozwój niebiałkowych ligandów ORL jako nowych analgetyków [76]. Ciągłe aktualne pozostaje pytanie, czy substancje te będą mogły być stosowane jako obwodowe analgetyki. Aby na nie odpowiedzieć, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

Powyższe badania wykazują, że zarówno leki konwencjonalne, jak i nowe typy agonistów oraz antagonistów opioidowych, a także ORL można podawać miejscowo. Endogenna opioidowa analgezja obwodowa teoretycznie może być stymulowana albo poprzez wzrost liczby immunocytów produkujących peptydy opioidowe, albo poprzez wzrost produkcji i/lub uwalniania peptydów opioidowych z tych komórek. Ponieważ pole ich działania jest ściśle ograniczone do obwodu, analgetyki te powinny być wolne od niepożądanych centralnych skutków ubocznych kojarzonych typowo z podawaniem opioidów.

23. Uhl G.R., Sora I., Wang Z. The mu opiate receptor as a candidate gene for pain: polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 7752–7755.
24. Jordan B.A., Devi L.A. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature* 1999; 399: 697–700.
25. Taiwo Y.O., Levine J.D. Kappa- and delta-opioids block sympathetically dependent hyperalgesia. *J. Neurosci.* 1991; 11: 928–932.
26. Koltzenburg M., Kress M., Reeh P.W. The nociceptor sensitization by bradykinin does not depend on sympathetic neurons. *Neuroscience* 1992; 46: 465–473.
27. Schäfer M.K.H., Bette M., Romeo H., Schwaeble W., Weihe E. Localization of kappa-opioid receptor mRNA in neuronal subpopulations of rat sensory ganglia and spinal cord. *Neurosci. Lett.* 1994; 167: 137–140.
28. Wenk H.N., Honda C.N. Immunohistochemical localization of delta opioid receptors in peripheral tissues. *J. Comp. Neurol.* 1999; 408: 567–579.
29. Zhang X., Bao L., Arvidsson U., Elde R., Hökfelt T. Localization and regulation of the delta-opioid receptor in dorsal root ganglia and spinal cord of the rat and monkey: evidence for association with the membrane of large dense-core vesicles. *Neuroscience* 1998; 82: 1225–1242.
30. Zhou L., Zhang Q., Stein C., Schäfer M. Contribution of opioid receptors on primary afferent versus sympathetic neurons to peripheral opioid analgesia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998; 286: 1000–1006.
31. Bryant H.U., Holaday J.W. W: Herz A. red. *Opioids II*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 551–570.
32. Sharp B.M. W: Machelska H., Stein C. red. *Immune mechanisms in pain and analgesia*, Landes Bioscience, Georgetown 2001: 98–105.
33. Panerai A.E., Sacerdote P. Beta-endorphin in the immune system: a role at last? *Immunology Today* 1997; 18: 317–319.
34. Rogers H., Birch P.J., Harrison S.M. i wsp. GR94839, a κ -opioid agonist with limited access to the central nervous system, has antinociceptive activity. *Br. J. Pharmacol.* 1992; 106: 783–789.
35. Giardina G., Clarke G.D., Grugni M., Sbachhi M., Vecchiotti V. Central and peripheral analgesic agents: chemical strategies for limiting brain penetration in kappa-opioid agonists belonging to different chemical classes. *Farmacologia* 1995; 50: 405–418.
36. Stein C., Hassan A.H.S., Lehrberger K., Giefing J., Yassouridis A. Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. *Lancet* 1993; 342: 321–324.
37. Maekawa K., Minami M., Yabuuchi K. i wsp. In situ hybridization study of mu- and kappa-opioid receptor mRNAs in the rat spinal cord and dorsal root ganglia. *Neurosci. Lett.* 1994; 168: 97–100.
38. Jeanjean A.P., Moussaoui S.M., Maloteaux J.M., Laduron P.M. Interleukin-1 beta induces long-term increase of axonally transported opiate receptors and substance P. *Neuroscience* 1995; 68: 151–157.
39. Zöllner C., Shaqura M.A., Bopaiah C.P., Mousa S.A., Stein C., Schäfer M. Painful inflammation-induced increase in mu-opioid receptor binding and G-protein coupling in primary afferent neurons. *Mol. Pharmacol.* 2003; 64: 202–210.
40. Rasenick M.M., Childers S.R. Modification of Gs-stimulated adenylate cyclase in brain membranes by low pH pretreatment: correlation with altered guanine nucleotide exchange. *J. Neurochem.* 1989; 53: 219–225.
41. Selley D.E., Breivogel C.S., Childers S.R. Modification of G protein-coupled functions by low-pH pretreatment of membranes from NG108-15 cells: increase in opioid agonist efficacy by decreased inactivation of G proteins. *Mol. Pharmacol.* 1993; 44: 731–741.
42. Shaqura M.A., Zöllner C., Mousa S.A., Stein C., Schäfer M. Characterization of mu opioid receptor binding and G-protein coupling in rat hypothalamus, spinal cord and primary afferent neurons during inflammatory pain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 30: w druku.
43. Antonijevic I., Mousa S.A., Schäfer M., Stein C. Perineural defect and peripheral opioid analgesia in inflammation. *J. Neurosci.* 1995; 15: 165–172.
44. Weihe E., Nohr D., Millan M.J. i wsp. Peptide neuroanatomy of adjuvant-induced arthritic inflammation in rat. *Agents Actions* 1988; 25: 255–259.
45. Moiniche S., Dahl J.B., Kehlet H. Peripheral antinociceptive effects of morphine after burn injury. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1993; 37: 710–712.
46. Kinnman E., Nygard E.B., Hanson P. Peripherally administered morphine attenuates capsaicin-induced mechanical hypersensitivity in humans. *Anesth. Analg.* 1997; 84: 595–599.
47. Likar R., Koppert W., Blatnik H. i wsp. Efficacy of peripheral morphine analgesia in inflamed, non-inflamed and perineural tissue of dental surgery patients. *J. Pain Symp. Manage.* 2001; 21: 330–337.
48. Schäfer M. Peripheral opioid analgesia: from experimental to clinical studies. *Curr. Opin. Anaesth.* 1999; 12: 603–607.
49. Stein C., Comisel K., Haimerl E. i wsp. Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 1123–1126.
50. Khoury G.F., Chen A.C.N., Garland D.E., Stein C. Intraarticular morphine, bupivacaine, and morphine/bupivacaine for pain control after knee videoarthroscopy. *Anesthesiology* 1992; 77: 263–266.
51. Joshi G.P., McCarroll S.M., Cooney C.M., Blunnie W.P., O'Brien T.M., Lawrence A.J. Intra-articular morphine for pain relief after knee arthroscopy. *J. Bone Joint. Surg. Br.* 1992; 74: 749–751.
52. Gupta A., Bodin L., Holmström B., Berggren L. A systematic review of the peripheral analgesic effects of intraarticular morphine. *Anesth. Analg.* 2001; 93: 761–770.

53. Kalso E., Smith L., McQuay H.J., Moore A.R. No pain, no gain: clinical excellence and scientific rigour — lessons learned from IA morphine. *Pain* 2002; 98: 269–275.
54. Duckett J.W., Cangiano T., Cubina M., Howe C., Cohen D. Intravesical morphine analgesia after bladder surgery. *J. Urol.* 1997; 157: 1407–1409.
55. Parsons C., Herz A. Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. Evidence for activation by enkephalin-like opioid peptides after cold water swim stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1990; 255: 795–802.
56. Przewlocki R., Hassan A.H.S., Lason W., Epplen C., Herz A., Stein C. Gene expression and localization of opioid peptides in immune cells of inflamed tissue: functional role in antinociception. *Neuroscience* 1992; 48: 491–500.
57. Nakanishi S., Inoue A., Kita T. i wsp. Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature* 1979; 278: 423–427.
58. Kakidani H., Furutani Y., Takahashi H. i wsp. Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine beta-neo-endorphin/dynorphin precursor. *Nature* 1982; 298: 245–249.
59. Noda M., Furutani Y., Takahashi H. i wsp. Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature* 1982; 295: 202–206.
60. Cabot P.J., Carter L., Gaiddon C. i wsp. Immune cell-derived beta-endorphin. Production, release, and control of inflammatory pain in rats. *J. Clin. Invest.* 1997; 100: 142–148.
61. Cabot P.J., Carter L., Schäfer M., Stein C. Methionine-enkephalin-and Dynorphin A-release from immune cells and control of inflammatory pain. *Pain* 2001; 93: 207–212.
62. Mousa S.A., Shakibaei M., Sitte N., Schäfer M., Stein C. Subcellular pathways of β -endorphin synthesis, processing and release from immunocytes in inflammatory pain. *Endocrinology* 2003; 10.1210/en.2003-1287.
63. Rittner H.L., Brack A., Machelska i wsp. Opioid peptide-expressing leukocytes: identification, recruitment, and simultaneously increasing inhibition of inflammatory pain. *Anesthesiology* 2001; 95: 500–508.
64. Machelska H., Cabot P.J., Mousa S.A., Zhang Q., Stein C. Pain control in inflammation governed by selectins. *Nature Med.* 1998; 4: 1425–1428.
65. Zadina J.E., Hackler L., Lin-Jun G., Kastin A.J. A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature* 1997; 386: 499–502.
66. Zadina J.E., Martin-Schild S., Gerall A.A. i wsp. Endomorphins: novel endogenous mu-opiate receptor agonists in regions of high mu-opiate receptor density. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999; 897: 136–144.
67. Trafton J.A., Abbadie C., Marek K., Basbaum A.I. Postsynaptic signaling via the [mu]-opioid receptor: responses of dorsal horn neurons to exogenous opioids and noxious stimulation. *J. Neurosci.* 2000; 20: 8578–8584.
68. Mousa S.A., Machelska H., Schafer M., Stein C. Immunohistochemical localization of endomorphin-1 and endomorphin-2 in immune cells and spinal cord in a model of inflammatory pain. *J. Neuroimmunol.* 2002; 126: 5–15.
69. Meunier J.C. Utilizing functional genomics to identify new pain treatments: the example of nociceptin. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; 340: 1–15.
70. Reinscheid R.K., Nothacker H.P., Bourson A. i wsp. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science* 1995; 270: 792–794.
71. Monteillet-Agius G., Fein J., Anton B., Evans C.J. ORL-1 and mu opioid receptor antisera label different fibers in areas involved in pain processing. *J. Comp. Neurol.* 1998; 399: 373–383.
72. Nishi M., Houtanim T., Noda Y. i wsp. Unrestrained nociceptive response and dysregulation of hearing ability in mice lacking the nociceptin/orphaninFQ receptor. *EMBO J.* 1997; 16: 1858–1864.
73. Smith P.A., Moran T.D. The nociceptin receptor as a potential target in drug design. *Drug News Perspect.* 2001; 14: 335–345.
74. Zaveri N. Peptide and nonpeptide ligands for the nociceptin/orphanin FQ receptor ORL1: research tools and potential therapeutic agents. *Life Sci.* 2003; 73: 663–678.
75. Lefkowitz M. Pain management for the AIDS patient. *J. Fla. Med. Assoc.* 1996; 31: 701–704.
76. Wyatt S.H., Fishman E.K. The acute abdomen in individuals with AIDS. *Radiol. Clin. North. Am.* 1994; 5: 1023–1043.
77. Hewitt D.J., McDonald M., Portenoy R.K., Rosenfeld B., Passik S., Breitbart W. Pain syndromes and etiologies in ambulatory AIDS patients. *Pain* 1997; 70: 117–123.
78. Polydefkis M., Yiannoutsos C.T., Cohen B.A. i wsp. Reduced intraepidermal nerve fiber density in HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology* 2002; 8: 115–119.
79. Schäfer M., Carter L., Stein C. Interleukin 1 beta and corticotropin-releasing factor inhibit pain by releasing opioids from immune cells in inflamed tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 4219–4223.
80. Braz J., Beaufour C., Coutaux A. i wsp. Therapeutic efficacy in experimental polyarthritis of viral-driven enkephalin overproduction in sensory neurons. *J. Neurosci* 2001; 21: 7881–7888.
81. Lu C.Y., Chou A.K., Wu C.L. i wsp. Gene-gun particle with pro-opiomelanocortin cDNA produces analgesia against formalin-induced pain in rats. *Gene Ther.* 2002; 9: 1008–1014.
82. Kolesnikov Y., Pasternak G.W. Topical opioids in mice: analgesia and reversal of tolerance by a topical N-methyl-D-aspartate antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 290: 247–252.
83. Tokuyama S., Inoue M., Fuchigami T., Ueda H. Lack of tolerance in peripheral opioid analgesia in mice. *Life Sci.* 1998; 62: 1677–1681.
84. Ueda H., Inoue M. Peripheral morphine analgesia resistant to tolerance in chronic morphine-treated mice. *Neurosci. Lett.* 1999; 266: 105–108.
85. Nozacki-Taguchi N., Yaksh T.L. Characterization of the antihyperalgesic action of a novel peripheral μ -opioid receptor agonist-loperamide. *Anesthesiology* 1999; 90: 225–234.
86. Machelska H., Binder W., Stein C. W: Kalso E. McQuay H., Wiesenfeld-Hallin Z. red. Opioid Sensitivity of Chronic Noncancer Pain. IASP Press, Seattle 1999: 45–58.
87. Jin S., Lei L., Wang Y., Da D., Zhao Z. Endomorphin-1 reduces carrageenan-induced fos expression in the rat spinal dorsal horn. *Neuropeptides* 1999; 33: 281–284.
88. Khalil Z., Sonderson K., Modig M., Nyberg F. Modulation of peripheral inflammation by locally administered endomorphin-1. *Inflamm. Res.* 1999; 48: 550–556.
89. Binder W., Machelska H., Mousa S. i wsp. Analgesic and antiinflammatory effects of two novel kappa-opioid peptides. *Anesthesiology* 2001; 94: 1034–1044.
90. Stein A., Yassouridis A., Szopko C., Helmke K., Stein C. Intraarticular morphine versus dexamethasone in chronic arthritis. *Pain* 1999; 83: 525–532.
91. Perrot S., Guilbaud G., Kayser V. Effects of intraplantar morphine on paw edema and pain-related behaviour in a rat model of repeated acute inflammation. *Pain* 1999; 83: 249–257.
92. DeHaven-Hudkins D.L., Burgos L.C., Cassel J.A. i wsp. Loperamide (ADL 2–1294), an opioid antihyperalgesic agent with peripheral selectivity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 289: 494–502.
93. Dooley C.T., Ny P., Bidlack J.M., Houghten R.A. Selective ligands for the mu, delta, and kappa opioid receptors identified from a single mixture based tetrapeptide positional scanning combinatorial library. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 18848–18856.