

Joanna Mika

Zakład Farmakologii Bólu Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Systemy opioidowe oraz udział komórek glejowych w efektach opioidów

Przedrukowano za zgodą z: *Advances in Palliative Medicine* 2008; 7: 185–196

Streszczenie

Zrozumienie molekularnych mechanizmów zachodzących w systemach opioidowych w bólu przewlekłym powinno wyznaczyć nowe skuteczniejsze metody farmakoterapii bólu. Farmakologiczne zahamowanie aktywności gleju w połączeniu z morfina, metadonem, fentanylem i buprenorfiną może stanowić ważny aspekt terapii bólu. Długotrwałe stosowanie klasycznych opioidowych leków przeciwbólowych u pacjentów z przewlekłymi procesami bólowymi wywołuje tolerancję, a poszukiwanie nowych strategii leczenia na bazie poznanych mechanizmów bólu stanowi istotny problem zarówno kliniczny, jak i naukowy.

Medycyna Paliatywna w Praktyce 2009; 3, 1: 28–39

Słowa kluczowe: peptydy opioidowe, receptory opioidowe, opioidy, morfina, glej, minocyklina, pentoksyfilina, ibudilast

Systemy opioidowe

Peptydy opioidowe

Peptydy opioidowe pochodzą z trzech prekursorów: proopiomelanokortyny, proenkefaliny i prodynorfiny. Proopiomelanokortyna jest prekursorem peptydów opioidowych: α -, β -, γ -endorfiny, a także peptydów nieopioidowych: ACTH, α - i β -MSH, CLIP, β -LPH. Z nich najlepiej poznany opioidowy peptydem jest β -endorfina, która odgrywa istotną rolę w stresie, przewodzeniu bodźców bólowych, regulacji hormonalnej oraz w regulacji funkcji układu immunologicznego. Proenkefalina jest prekursorem Leu- i Met-enkefaliny, Met-enkefaliny-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸, Met-enkefaliny-Arg⁶-Phe⁷, BAM, peptydów E i F. Peptydy te są zaangażowane w mechanizmy nocycypcji, procesy motywacyjne, modulację funkcji układu pozapiramidowego oraz biorą udział w regulacji sta-

nów drgawkowych. Natomiast z prodynorfiny powstają: dynorfina A, dynorfina B (rimorfina) oraz α - i β -neoendorfina. Są dowody, że niektóre peptydy pochodzące z prodynorfiny poza działaniem opioidowym wywołują efekty nieopioidowe i z tego powodu czasem są zaliczane do grupy neuropeptydów o działaniu nieopioidowym [1–8]. W 1997 roku Zadina i wsp. odkryli nowe endogenne peptydy, które wykazują bardzo wysokie powinowactwo i selektywność w stosunku do receptora opioidowego MOP. Ze względu na ich selektywne działanie na receptor, przez który działa morfina, zostały nazwane endomorfinami [9]. Nadal nic nie wiadomo o ich prekursorze i kodującym je genie, natomiast ich lokalizacja w pniu mózgu, rdzeniu kręgowym oraz zwojach nerwowych, a także współwystępowanie z receptorem opioidowym MOP sugerują ważny udział w procesach nocycypcji [10]. Obecnie

Adres do korespondencji: dr Joanna Mika
Zakład Farmakologii Bólu, Instytut Farmakologii PAN
ul. Smętna 12, 31–343 Kraków
tel.: (012) 662 32 40, faks: (012) 637 45 00
e-mail: joamika@if-pan.krakow.pl



Medycyna Paliatywna w Praktyce 2009, 3, 1, 28–39
Copyright © Via Medica, ISSN 1898–0678

Tabela 1. Wybrane endogenne peptydy opioidowe, ich prekursorzy oraz struktura

Prekursor	Peptyd	Struktura
POMC	β -endorfina ₍₁₋₃₁₎	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Tyr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-His-Lys-Lys-Gly-Gln-OH
PENK	Met-enkefalina	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH
PDYN	Dynorfina A ₍₁₋₁₇₎	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln-OH
NIEZNANY	Endomorfina-1	H-Tyr-Pro-Trp-Phe-NH ₂
NIEZNANY	Endomorfina-2	H-Tyr-Pro-Phe-Phe-NH ₂

służą one głównie jako substancje narzędziowe w badaniu podstawowym [11, 12].

Dotychczas poznane prekursorzy peptydów opioidowych są kodowane przez trzy geny, które wykazują wiele strukturalnych podobieństw mogących świadczyć o ich wspólnym pochodzeniu ewolucyjnym. Podobieństwa dotyczą również długości łańcuchów peptydowych tych prekursorów, jako że proopiomelanokortyna składa się z 265, proenkefalina z 263, a prodynorfina z 256 aminokwasów [13]. Peptydy pochodzące z tych prekursorów mają niejednorodną strukturę, wiążą się do różnych receptorów opioidowych, natomiast posiadają na N-końcu w pierwszej pozycji tyrozynę (tab. 1).

Receptory opioidowe

Peptydy opioidowe działają poprzez specyficzne dla siebie receptory. Wyróżnia się trzy typy receptorów opioidowych: μ , δ i κ ; obecnie obowiązujące nazwy tych receptorów to — odpowiednio — MOP (μ -opioid peptide), DOP i KOP. Endogennymi ligandami dla MOP receptorów są endomorfiny, ponadto peptydy, pochodzące z proopiomelanokortyny, a także enkefaliny. Endogennymi ligandami receptorów DOP są enkefaliny, natomiast receptorów KOP — peptydy pochodzące z prodynorfiny [14]. Wyizolowane białka receptorowe mają różną masę cząsteczkową: MOP — 65 kDa, DOP — 53 kDa, a KOP — 55 i 35 kDa [15–19]. Wszystkie trzy receptory opioidowe zostały już sklonowane. Początkowo sklonowano receptor DOP [16, 17], a następnie KOP [19] oraz MOP [18]. W strukturze receptorów opioidowych można wyróżnić siedem hydrofobowych transbłonowych domen oraz trzy pętle i C-końcowy fragment skierowany do wnętrza komórki. Pozostałe trzy pętle oraz N-końcowy fragment znajdują się na zewnątrz komórki. Receptory opioidowe — sklonowane u gryzoni — wykazują około 65% homologii w sekwencji aminokwasowej. Największe podobieństwo dotyczy domen transbłonowych i pętli wewnątrzkomórkowych, natomiast różnice — końców N i C oraz pętli zewnątrzkomórkowych. Receptory opioidowe u ludzi wykazują duże podobieństwo sekwencji aminokwasowej oraz se-

lektywności ligandów względem receptorów występujących u gryzoni [20–22].

Sklonowanie receptorów pozwoliło na dokładne opisanie ich molekularnej budowy, co z kolei spowodowało ogromny postęp w badaniach funkcji tych receptorów. Receptory opioidowe należą do grupy receptorów sprzężonych z białkami G. Opioidy będące agonistami opioidowych receptorów MOP, DOP i KOP hamują aktywność cykazy adenylanowej przez aktywację białek G_i i G_o [8, 16, 19, 23, 24]. Opioidy wpływają nie tylko na wtórne przekaźniki, ale także na przewodnictwo jonowe w komórce. Uważa się, że opioidy hamują pobudliwość komórek nerwowych przez dwa mechanizmy: hamowanie przewodnictwa Ca^{2+} oraz nasilenie przewodnictwa K^+ [25]. Zrozumienie sposobu działania endogennych opioidów pochodzących z proopiomelanokortyny, proenkefaliny i prodynorfiny jest trudne, ze względu na brak ich wybiórczego działania na tylko jeden typ receptora opioidowego (MOP, DOP lub KOP). Wyjątkiem są endomorfiny, które mają bardzo wysokie powinowactwo (endomorfina-1, $K_i = 360$ pM; endomorfina-2, $K_i = 690$ pM) i selektywność do receptora opioidowego MOP [9, 10]. Do badań systemów opioidowych wykorzystuje się głównie syntetyczne analogi, często niepeptydowe substancje, które są odporne na peptydazy oraz wykazują dużą selektywność do poszczególnych typów, a czasem nawet podtypów receptorów. Endogenne opioidy, endomorfina-1 i endomorfina-2, aktywują białko G podobnie do syntetycznego agonisty DAMGO [26]. Morfina, DAMGO i endomorfina-1 aktywują białka G_{11a}/G_{12a} , G_{oa} i G_{13a} w podobny sposób, natomiast w odmienny sposób G_{qa}/G_{11a} oraz G_{sa} , co może być przyczyną różnic w internalizacji receptora opioidowego MOP, jaką obserwuje się pomiędzy morfiną a tymi peptydami [27]. Wydaje się ciekawe, że wycięcie przy C-końcu 33 aminokwasów nie wpływa na wiązanie DAMGO, morfiny i naloksonu do receptora opioidowego MOP. Jednakże takie skrócenie receptora powoduje utratę zdolności oddziaływania z systemem hamującym powstawanie cAMP przez DAMGO, ale nie przez morfinę. Wskazuje to na wyraźne różnice w możli-

wościach regulacji poziomu wtórnych przekazników pomiędzy agonistami peptydowymi, jak DAMGO, oraz agonistami, jak morfina o budowie alkaloidowej [15]. Dodatkowo w ostatnich latach okazało się, że morfina nie powoduje internalizacji receptora opioidowego MOP, czyli przesunięcia receptora do wnętrza komórki i następnie jego powrotu na błonę komórkową, natomiast DAMGO i endomorfiny wywołują to zjawisko [27]. W tej różnicy obecnie upatruje się zmian w efektywności morfiny, jak tolerancja czy spadek efektywności w bólu neuropatycznym.

Przy użyciu techniki wiązania radioaktywnych ligandów wykazano obecność w mózgu szczura podtypów receptora MOP, opisując je jako podtyp 1 i 2, różniących się powinowactwem do ich selektywnych antagonistów, którymi są — odpowiednio — naloksonazyna i naloksazon. Istnienie podtypów receptorów MOP potwierdzają badania z zastosowaniem antysensownych oligodeoksynukleotydów, przy czym receptor MOP podtypu pierwszego, który pośredniczy w antynocyceptywnym działaniu morfiny na wyższych piętrach układu nerwowego, miałby zawierać sekwencję polipeptydów kodowaną przez egzony 1 i 4, natomiast receptor MOP podtypu drugiego pośredniczy w antynocyceptywnym działaniu morfiny na poziomie rdzenia kręgowego i w motoryce jelitowej tylko przez egzony 1 i 4 [28]. Istnieją również sugestie dotyczące występowania trzeciego podtypu receptora MOP, który miałby odpowiadać za przeciwbólne działanie glukuronianu morfiny, ale nie samej morfiny. Sekwencja aminokwasów tego receptora byłaby kodowana przez egzony 2 i 3, ale nie przez egzony 1 i 4 [28]. Receptory podtypu pierwszego wiążą z wysokim powinowactwem morfinę oraz niektóre enkefalinę, a także syntetyczne ligandy receptora DOP jak DADLE (D-Ala²-D-Leu⁵-enkefalinę) lub DSLET (Tyr-D-Ser²-Gly-Phe-Leu⁵-Thr-enkefalinę). Natomiast receptory podtypu drugiego wiążą z niskim powinowactwem klasycznych agonistów receptora MOP, tj. morfinę oraz DAMGO (D-Ala²-Me-Phe⁴-Gly-(ol)⁵-enkefalinę) [29, 30].

Liczne badania sugerują również istnienie podtypów receptora DOP. Ich selektywnymi agonistami są (odpowiednio): receptor typu pierwszego DPDPE — deltorfina I — oraz typu drugiego — deltorfina II, a antagonistami: typu pierwszego — 7-benzylideno-naltrekson (BNTX) i [D-Ala²,Leu⁵,Cys⁶]enkefalina (DALCE) oraz typu drugiego — naltriben (NTB) i 5'izotiocyanian naltrindolu (NTII) (tab. 2). O istnieniu podtypów receptora DOP świadczy także fakt, że agoniści DPDPE i deltorfina II nie dają krzyżowej tolerancji. Również selektywni antagoniści receptora DOP, DALCE oraz NTII w różny sposób antagonizują efekty

przeciwbólne wywołane przez DPDPE i deltorfinę II [31, 32]. Oba podtypy receptorów DOP mogą być także aktywowane przez endogenne opioidy: enkefalinę i β -endorfinę. Badania z zastosowaniem antysensownych oligodeoksynukleotydów sugerują, że sklonowany receptor DOP odpowiada podtypowi drugiemu, gdyż podanie do bocznej komory mózgu antysensownego oligodeoksynukleotydu przeciw receptorowi DOP hamowało przeciwbólne działanie deltorfiny II, ale nie DPDPE [28, 33].

Na podstawie wyników badań dotyczących wiązania ligandów sugeruje się też występowanie podtypów receptora KOP. Uważa się, że specyficznymi agonistami receptora podtypu pierwszego są związki o budowie aryloacetamidowej U69,593 i U50,488H; podtypu drugiego — bremazocyna i etyloketocylazocyna; natomiast podtypu trzeciego — pochodna naloksonu, związek oznaczany symbolem NalBzoH (tab. 2). Istnieją też pewne sugestie wskazujące na występowanie podtypu czwartego [28].

Endogenne peptydy opioidowe, pochodzące z proopiomelanokortyny i z proenkefaliny, wykazują większe powinowactwo do receptora MOP i DOP niż do receptora KOP, natomiast peptydy pochodzące z prodynorfiny wiążą się głównie do receptora KOP [34]. Należy podkreślić, że żaden ze znanych endogennych peptydów opioidowych — poza endomorfinami — nie jest selektywny w stosunku do tylko jednego typu receptora opioidowego. Określenie roli poszczególnych typów receptorów opioidowych jest szczególnie istotne ze względu na to, że bardziej efektywne jest stosowanie w klinice leków wykazujących swoje działanie poprzez różne receptory opioidowe, między innymi: morfiny (MOP i DOP), metadonu (agonista MOP, DOP i KOP), fentanylu (silny agonista receptora MOP oraz słaby DOK i KOP) i buprenorfiny, która jest częściowym agonistą MOP, DOK i KOP oraz agonistą receptora NOP (*nociceptin peptide*). W leczeniu bólu przewlekłego wykorzystywanie różnych typów, a nawet podtypów receptorów opioidowych przez rotację podawanych leków może umożliwić długotrwałe i efektywne stosowanie opioidów.

Działanie antynocyceptywne opioidów

Neuromodulacja w procesach nocyceptywnych polega na modulacji procesów zarówno dośrodkowego, jak i odśrodkowego przewodzenia bodźców bólowych. Neurony obwodowe przekazują impulsy bólowe od nocyceptorów, znajdujących się w tkankach obwodowych, do rogów grzbietowych rdzenia kręgowego, dalej impulsy są przesyłane do wzgórza bezpośrednio — drogami rdzeniowo-wzgórzowymi — do jąder śródbłaszczkowych wzgórza lub

Tabela 2. Ligandy receptorów opioidowych MOP, DOP i KOP oraz receptora NOP

	MOP	DOP	KOP	NOP
ENDOGENNI AGONIŚCI				
Endomorfina-1	X			
Endomorfina-2	X			
β -endorfina	X	X		
Met-enkefalina	x	X	x	
Leu-enkefalina	x	X	x	
Dynorfina	x	x	X	
Nocyceptyna				X
SYNTEZYCZNI AGONIŚCI				
DAMGO	X			
DPDPE		X		
[D-Ala ²]deltorfina I		X		
[D-Ala ²]deltorfina II		X		
SNC80		X		
ICI 199 441			X	
ICI 174 864			X	
PD 111 7302			X	
U50 488H			X	
Bremazocyna			X	
NalBzoH			X	
RO64-6198				X
RO65-6570				X
LEKI STOSOWANE W KLINICE				
Morfina	X	X		
Petydyna	X			
Tramadol	X	x	x	
Oksykodon	X		X	
Kodeina	X			
Pentazotocyna			X	
Fentanyl	X	x	x	
Metadon	X	X	X	
Buprenorfina	x	x	x	X
ANTAGONIŚCI				
Nalokson	X	X	X	
Cyprodime	X			
CTOP	X			
Naloksonazyna	X			
Naloksazon	X			
BNTX		X		
NTII		X		
NTB		X		
norBNI			X	
GNTI			X	
J-113397				X
JTC-801				X
CompB				X
NPhe [N-Phe ¹]-NC(1-13)NH ₂				X
Phe ψ [Phe ¹ ψ (CH ₂ -NH)Gly ²]NC(1-13)NH ₂				X

X — silne powinowactwo do danego typu receptora; x — słabe powinowactwo do danego typu receptora

pośrednio — drogami rdzeniowo-siatkowatymi (przez jądra siatkowate i substancję szarą okołowodociągową) — do jąder brzuszno-tylnych wzgórza, a następnie komórki ze wzgórza wysyłają aksony do kory mózgowej [35, 36]. Dowodami na istnienie hamujących dróg zstępujących, zwanych antynocyceptywnymi, jest silna analgeza wywołwana podaniem opioidów do przestrzeni podpajęczynówkowej. Również stymulacja włókien eferentnych, wychodzących z substancji szarej okołowodociągowej a dochodzących do rogów tylnych rdzenia, powoduje silne działanie przeciwbólowe [35, 36].

Badania immunocytochemiczne oraz hybrydyzacja *in situ* potwierdziły, że zarówno peptydy opioidowe, jak i mRNA kodujące ich prekursorów występują na wszystkich poziomach szlaków neuronalnych. Neurony zawierające proopiomelanokortynę znajdują się w jądrze łukowatym podwzgórza, w substancji szarej okołowodociągowej, w jądrach wzgórza i szwu, w układzie limbicznym, a także w jądrze pasma samotnego, skąd projektują do rdzenia kręgowego. Szeroko rozprzestrzenione w strukturach ośrodkowego układu nerwowego są neurony zawierające proenkefalinę i prodynorfinę. W dużych ilościach są one zlokalizowane w substancji szarej okołowodociągowej, wzgórzu, jądrach szwu oraz w warstwach rogów grzbietowych rdzenia kręgowego, a także — w mniejszych ilościach — w korze mózgowej. Często jest również ich kolokalizacja [37].

Zaangażowanie systemów opioidowych w przewodzenie bodźców nocyceptywnych potwierdza fakt, że elektryczna stymulacja neuronów wychodzących z substancji szarej okołowodociągowej, jąder szwu i jąder siatkowatych do rdzenia kręgowego wywołuje analgezę, co wiąże się z wydzielaniem w tych strukturach peptydów opioidowych [35]. Ponadto uszkodzenie jądra łukowatego podwzgórza, głównego miejsca biosyntezy proopiomelanokortyny w mózgu, osłabia działanie przeciwbólowe wywołane elektrycznym drażnieniem substancji szarej okołowodociągowej, w której występują zakończenia neuronów β -endorfinowych [35]. β -endorfina, a także egzogeni agonści receptorów MOP, podane zarówno do komory bocznej mózgu, jak i nardzeniowo u gryzoni, wykazują działanie przeciwbólowe [38, 39].

Dane anatomiczne wskazują, że wszystkie trzy główne typy receptorów opioidowych mogą pośredniczyć w analgetycznym działaniu opioidów. W drogach zstępujących wszystkie typy receptorów opioidowych występują w substancji szarej okołowodociągowej, w jądrach siatkowatych mostu (wielkokomórkowym i pośrednim), z przewagą receptorów MOP i KOP w jądrach szwu (środkowym i wiel-

kim). We wstępujących neuronalnych drogach nocyceptywnych w zwojach korzeni grzbietowych, rdzeniu kręgowym oraz rdzeniowym jądrze trójdzielnym występują zarówno receptory MOP, KOP, jak i DOP. We wzgórzu znajdują się głównie receptory MOP i KOP, natomiast znacznie mniej jest receptorów DOP. Rozmieszczenie receptorów opioidowych MOP, DOP i KOP oraz ich mRNA w rdzeniu kręgowym i zwojach nerwowych świadczy o bardzo ważnym udziale w modulacji informacji nocyceptywnej, co zostało opisane przez wielu autorów [40–42].

W lędźwiowej części rdzenia kręgowego mRNA receptora MOP jest zlokalizowane głównie w warstwie I-II, czyli w miejscu szczególnie istotnym dla procesów nocyceptywnych ze względu na kończące się w tym obszarze włókna pierwotne C i A δ oraz włókna zawierające Met-enkefalinę. Sugeruje to bardzo istotny udział w modulacji informacji nocyceptywnej przewodzonej przez postsynaptyczne receptory zlokalizowane na pierwotnych włóknach wstępujących. Poza tym mRNA receptora MOP występuje w warstwie III i IV, a także w części brzusznej lędźwiowego odcinka rdzenia kręgowego w warstwie VII i VIII, co sugeruje udział w nocyceptywnej transmisji drogą rdzeniowo-wzgórzową i rdzeniowo-siatkowatą. W warstwie IX jest bardzo słaba ekspresja mRNA receptora MOP, natomiast obserwuje się pewien poziom mRNA receptora MOP w warstwie X, co sugeruje wpływ tych receptorów na informację nocyceptywną przekazywaną do jądra bocznego siateczkowatego, jądra siateczkowatego wielkokomórkowego i jądra bocznego okołowielkokomórkowego. Ekspresja mRNA receptora opioidowego DOP w lędźwiowej części rdzenia kręgowego jest stosunkowo wysoka, natomiast najintensywniejsza w warstwie IX, co świadczy o występowaniu mRNA receptora DOP w motoneuronach. Największe zagęszczenie komórek, w których zachodzi ekspresja mRNA receptora KOP, znajduje się w warstwach I i II lędźwiowego odcinka rdzenia kręgowego. W warstwach tych występują również włókna zawierające dynorfinę [3, 43]. Sugeruje to, że receptor opioidowy KOP, podobnie jak MOP, odgrywa bardzo istotną rolę w modulacji informacji nocyceptywnej poprzez postsynaptyczne receptory na pierwotnych włóknach wstępujących.

W strukturach wyższych pięter ośrodkowego układu nerwowego występuje wysoka korelacja między mRNA receptorów opioidowych a wiązaniem się ligandów do tych receptorów. Natomiast na poziomie rdzenia kręgowego w warstwach I-II wiązanie do receptorów MOP, DOP i KOP przewyższa poziom ich mRNA, co sugeruje presynaptyczne rozmieszczenie tych receptorów na zakończeniach pier-

wotnych włókien wstępujących, dochodzących do rdzenia kręgowego ze zwojów korzeni grzbietowych. Natomiast w głębszych warstwach rdzenia kręgowego obserwuje się silną korelację między mRNA receptorów opioidowych a wiązaniem ligandów, prawdopodobnie są to receptory postsynaptyczne [41]. W ośrodkowym układzie nerwowym neurony o dużej średnicy posiadają przede wszystkim receptory DOP, zaś neurony o średniej i małej średnicy — głównie receptory KOP. W neuronach o średniej i dużej średnicy występuje również mRNA receptorów MOP. Wydaje się prawdopodobne współwystępowanie receptorów MOP i DOP oraz MOP i KOP, ale nie DOP i KOP. Jest możliwe, że receptory MOP i DOP oraz MOP i KOP tworzą kompleksy receptorowe, które mogą być zaangażowane w różny sposób w przewodzenie bodźców nocycyptywnych [41]. Wiadomo, że jednym z mechanizmów działania opioidów jest hamowanie wydzielania neurotransmiterów przez pierwotne włókna dośrodkowe. Hybrydyzacja *in situ* wykazała występowanie mRNA receptorów opioidowych również w zwojach korzeni grzbietowych [41], gdzie znajdują się ciała komórek włókien pierwotnych. W zwojach nerwowych ekspresja mRNA receptora MOP jest bardzo wysoka i obejmuje około 55% neuronów, natomiast ekspresja mRNA kodującego receptor opioidowy DOP wynosi 20%, zaś dla receptora opioidowego KOP — około 18%. Niewątpliwie występujące tu receptory opioidowe odgrywają bardzo istotną rolę w transmisji nocycyptywnej [10].

Znaczenie receptora opioidowego MOP w transmisji nocycyptywnej potwierdziły badania prowadzone na myszach pozbawionych genu kodującego receptor opioidowy MOP, które wykazały brak analgetycznych efektów po podaniu endomorfina (selektywnych ligandów tego receptora) [44]. W stanie zapalnym, wywołanym podaniem formaliny, obserwuje się słabsze efekty endomorfina niż DAMGO i morfina, natomiast w bólu neuropatycznym endomorfina działają lepiej niż morfina [12]. Peptydy pochodzące z proenkefaliny oraz ich analogi również wywołują ośrodkową antynocycępcję. W przypadku endogennych peptydów efekt ten jest krótkotrwały, ponieważ łatwo są rozkładane przez enzymy proteolityczne. Natomiast ich analogi, odporne na działanie enzymów proteolitycznych, wykazują aktywność antynocycępczą po podaniach dokomorowych i nardzeniowych [38, 39]. Udział peptydów pochodzących z prodynorfina w mechanizmach nocycyptywnych nie został dotychczas całkowicie wyjaśniony. Opisano zarówno brak działania przeciwbólowego tych peptydów po podaniu do bocznej komory mózgu [4], jak i podwyższenie progu

bólowego po podaniach nardzeniowych [6, 45]. Obserwowany wzrost stężenia dynorfina w rdzeniu kręgowym w modelach bólu neuropatycznego pozwala przypuszczać, że peptyd ten może odgrywać istotną rolę w przewlekłych procesach bólowych [1, 3, 5, 43], zwłaszcza że zarówno dynorfina, jak i receptor KOP są zlokalizowane w rdzeniu kręgowym, głównie w strukturach związanych z przewodnictwem bodźców nocycyptywnych. Ponadto badania wykazały, że dynorfina, podana na rdzeń kręgowy w dużych dawkach, powoduje jego uszkodzenie [46]. Wyniki badań nad wpływem dynorfina A_{1-17} na koncentrację wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} wskazują na jej podwójną modulacyjną rolę. Obserwowano, że wysokie stężenie dynorfina A_{1-17} powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} , co jest związane zarówno z aktywacją receptora NMDA, jak i receptora opioidowego KOP. Natomiast dynorfina A_{1-17} w niskim stężeniu hamowała przewodnictwo Ca^{2+} [47]. Wydaje się, że dynorfina, przez wzrost wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} , może modulować efekty morfina, co potwierdzają badania, które wykazują, że antagonistą kanału wapniowego, nifedypina, nasila efekty antynocycępcze oraz opóźnia rozwój tolerancji [48]. Ostatnio wiele danych wskazuje na udział receptora NMDA w rozwoju i utrzymywaniu się bólu neuropatycznego. Badania autorów niniejszej pracy wykazały, że podanie antagonisty receptora KOP nor-binaltorfimy (norBNI) oraz 5'guanidynonaltrindolu (GNTI) zwiększa ból neuropatyczny. Zablokowanie receptora KOP, przy równoczesnej aktywacji endogennej dynorfina, powoduje, że oddziałuje ona na receptory NMDA, przyczyniając się do rozwoju alodynii i hiperalgezji [3]. Te badania dowodzą, że w bólu neuropatycznym dynorfina wywiera efekty również poprzez nieopioidowy mechanizm, powodując rozwój alodynii i hiperalgezji. Ponadto nardzeniowe podawanie MK-801 (niekompetytywnego antagonisty NMDA) lub podanie przeciwciał do dynorfina A_{1-13} łącznie z morfina powoduje pełną antynocycępcję [3, 49, 50]. Oznacza to, że toniczna aktywacja receptora NMDA po uszkodzeniu nerwu obwodowego ma wpływ na obniżenie efektywności działania morfina w modelu bólu neuropatycznego [49, 50], co może mieć znaczenie w poszukiwaniu nowego punktu uchwytu dla terapii bólu. Bazując na wynikach badań eksperymentalnych, obecnie w klinice podaje się morfina z ketamina, uzyskując lepszą analgezję oraz złagodzenie objawów niepożądanych [51].

Leki opioidowe działające poprzez receptor MOP należą wciąż do najbardziej skutecznych spośród dostępnych analgetyków. Ich skuteczność w ostrym bólu pourazowym i pooperacyjnym o znacznym na-

tężeniu jest niewątpliwa [52–54]. Stosowanie opioidów w uśmierzaniu bólu ostrego, między innymi pooperacyjnego, jest powszechne i nie budzi kontrowersji. Udowodniono, że skuteczne uśmierzenie bólu pooperacyjnego zmniejsza częstość powikłań i skracza czas pobytu pacjenta w szpitalu [52–55]. Zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) opioidy stosuje się w bólu nowotworowym szczególnie w fazie terminalnej [56]. U tych chorych, z bólem o znacznym stopniu natężenia, silnie działające opioidy są podawane w skojarzeniu z innymi lekami i przynoszą ulgę w 75–90% przypadków [54]. Istnieje wiele potencjalnych zalet skojarzonej farmakoterapii bólu, przede wszystkim możliwość uzyskania efektu addytywnego lub synergistycznego, co w konsekwencji umożliwia zastosowanie mniejszych dawek poszczególnych leków i może ograniczyć częstość występowania objawów niepożądanych [53]. Łączne stosowanie dwóch leków opioidowych o podobnym mechanizmie działania na receptory opioidowe, między innymi morfina i fentanyl, jest powszechne w klinice. Na przykład u chorych na nowotwór fentanyl można podawać przeskórnie, natomiast morfinę o natychmiastowym uwalnianiu można stosować w leczeniu bólów przebijających [53]. Problem łączenia ze sobą dwóch leków opioidowych jest bardzo interesujący, ale jego pełne zrozumienie wymaga dalszych badań [57, 58]. W badaniach doświadczalnych, przeprowadzonych na zwierzętach, zastosowanie morfina i metadonu łącznie z innymi agonistami receptora MOP (oksykodonem, oksymorfonem, fentanylem, alfentanylem czy petydyną) wywołuje efekt addytywny. Prawdopodobną przyczyną takiego oddziaływania są różnice w subpopulacjach receptora MOP, a także w mechanizmie działania różnych agonistów na ten receptor [58]. Morfina jest nadal podstawowym analgetykiem opioidowym 3. stopnia drabiny analgetycznej według WHO [56], jednak ze względu na niedostateczną analgezję i/lub nasilone objawy niepożądane występujące podczas leczenia doustną morfiną, wciąż poszukuje się nowych możliwości terapii, które umożliwią złagodzenie objawów niepożądanych i poprawią analgezję. Jednym ze sposobów leczenia może być zamiana (rotacja) opioidów (*opioid rotation, opioid switch*), która często pozwala na poprawę efektu przeciwbólowego i/lub złagodzenie nasilonych objawów niepożądanych. Rotacja opioidów w klinice jest stosowana w sytuacji pojawienia się objawów toksycznych, niedostatecznej kontroli bólu oraz przy nasilonych objawach niepożądanych a dobrym efekcie przeciwbólowym. Badania podstawowe dostarczyły dowodów na istnienie niepełnej tolerancji krzyżowej na poszczególne opioidy [30, 59]. Przyczyną

takiej sytuacji są genetycznie uwarunkowane różnice w powinowactwie i aktywacji poszczególnych receptorów przez różne opioidy, indywidualne różnice w farmakokinetyce poszczególnych opioidów, tolerancja oraz interakcje z innymi lekami [60, 61]. W przypadku stosowania rotacji opioidowej w klinice należy brać pod uwagę problemy związane z dawkowaniem, a przede wszystkim trudności w przewidywaniu efektów analgetycznych i objawów niepożądanych po zmianie leku. Obecnie jednym z częściej stosowanych silnych analgetyków opioidowych w rotacji opioidowej jest metadon. Wykazuje on bowiem efekty analgetyczne u pacjentów, u których wystąpiła tolerancja na innych agonistów receptora MOP [57, 58]. Odrębnym problemem jest ból neuropatyczny, ze względu na znaczne nasilenie, przewlekły charakter oraz oporność na leczenie. Backonja i wsp. [62] zalecają stosowanie terapii skojarzonej polegającej na podawaniu leków o różnych mechanizmach działania, które mogą być skuteczne u pacjentów z bólem neuropatycznym. Autorzy zalecają zastosowanie, oprócz leków opioidowych, również leków przeciwdepresyjnych, przeciwpadaczkowych oraz stosowanych powierzchniowo, jak lidokaina i kapsaicyna [53].

Nocyceptyna/orfanina FQ i receptor NOP

Próby sklonowania podtypów receptorów opioidowych doprowadziły do odkrycia nowego receptora, który został nazwany receptorem opioidowopodobnym (ORL1, *opioid receptor-like*) lub też — przez innych badaczy — receptorem orfanowym (czyli sierocym), ponieważ nieznanne były endogenne ligandy tego receptora, a opioidy nie wykazywały do niego powinowactwa. Obecnie stosuje się skrót receptor NOP (*nociceptin peptide*). W 1995 roku został wyizolowany endogenny, peptydowy ligand tego receptora — nocyceptyna/orfanina (N/OFQ) [63, 64]. Prekursorem N/OFQ jest gen pronocyceptynowy, bardzo podobny do prekursorów opioidowych, ale wykazujący szczególnie wysokie podobieństwo strukturalne do prodynorfina. N/OFQ i dynorfina A są peptydami o podobnej budowie, a ze względu na brak N-końcowej tyrozyny, N/OFQ nie wiąże się z receptorami opioidowymi (tab. 3). Ponieważ te peptydy występują w różnych neuronach i mają powinowactwo do różnych receptorów, ma to istotne znaczenie neurofizjologiczne [65, 66].

Zarówno N/OFQ, jak i receptor NOP są obecne w wielu strukturach mózgu, w rdzeniu kręgowym oraz w zwojach nerwowych [63, 67]. Wykazano kolokalizację N/OFQ i receptora NOP oraz peptydów

Tabela 3. Porównanie sekwencji aminokwasowej nocyceptyny/orfaniny FQ z dynorfiną A

Nocyceptyna/orfanina FQ	Phe-Gly-Gly-Phe -Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln
Dynorfina A	Tyr-Gly-Gly-Phe -Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln

pochodzących z proopiomelanokortyny w podwzgórzu i jądrze łukowatym. Wiadomo już, że receptor NOP jest obecny także na neuronach enkefalinergicznych w jądrze łukowatym, hipokampie i jądrze migdałowatym oraz potwierdzono kolokalizację N/OFQ i dynorfiny w substancji czarnej i jądrze łukowatym [68]. W rdzeniu kręgowym zlokalizowano włókna nerwowe zawierające N/OFQ i peptydy opioidowe [68]. W zwojach korzeni grzbietowych N/OFQ jest obecny tylko w małych neuronach znajdujących się w sąsiedztwie neuronów zawierających substancję P i CGRP. Natomiast receptory NOP znajdują się na 72% neuronów zawierających substancję P oraz 82% zawierających CGRP, co sugeruje, że N/OFQ może presynaptycznie modulować transmisję nocyceptywną włókien aferentnych [69].

Dane elektrofizjologiczne i behawioralne wskazują, że nardzeniowe podanie N/OFQ ma działanie analgetyczne [63, 70, 71]. Pomimo podobieństw strukturalnych farmakologiczny profil N/OFQ w wielu przypadkach jest przeciwny do opioidowego, a dodatkowo wykazano, że N/OFQ powoduje zahamowanie efektów opioidów. W bólu ostrym N/OFQ podana *i.c.v.* łącznie z morfiną u zwierząt powoduje dwukrotne osłabienie efektów analgetycznych morfiny [72]. Podania *i.c.v.* odwracają również efekty analgetyczne selektywnych agonistów MOP (DAMGO), KOP (U50,488H) i DOP (DPDPE) [73, 74]. Na podstawie wyników wielu prac można stwierdzić, że podania *i.c.v.* N/OFQ antagonizują przeciwbólowe efekty morfiny i innych opioidów. Natomiast antagoniści receptora NOP Nphe i Phe_ψ nasilają dawkozależne efekty przeciwbólowe morfiny [75, 76]. Wyniki *in situ* hybrydyzacji pokazały, iż podania nardzeniowe morfiny aktywują system nocyceptynowy [76]. Wzrost aktywności tego endogennego układu antyopiodowego może być przyczyną osłabienia efektywności morfiny w bólu neuropatycznym i szybkiego rozwoju tolerancji [76]. Badania prowadzone na myszach pozbawionych receptora NOP wykazały osłabienie szybkości rozwoju tolerancji morfinowej, co potwierdza funkcjonalną interakcję między receptorami NOP i MOP, jak również wskazuje na ważną rolę receptorów NOP w mechanizmach rozwoju tolerancji morfinowej [77].

Wyniki badań systemu nocyceptynowego umożliwiają poszukiwanie nowych leków, efektywniejszych w terapii bólu neuropatycznego [78]. W ba-

daniach stosuje się wiele syntetycznych ligandów receptora NOP (tab. 2). Natomiast w klinice wykorzystuje się buprenorfinę — półsyntetyczny opioid, który należy z jednej strony do grupy częściowych agonistów receptora opioidowego MOP, KOP i DOP, a z drugiej — do całkowitych agonistów receptora NOP. Działa ona silniej przeciwbólowo niż morfina w bólu neuropatycznym. Wydaje się że jej oddziaływanie na receptor NOP odgrywa ważną, choć jeszcze mało poznaną rolę. Istotnym punktem badań nad leczeniem bólu neuropatycznego są dzisiaj prace nad kojarzeniem ligandów receptorów opioidowych oraz NOP w celu uzyskania optymalnych efektów przeciwbólowych przy minimalizacji działań niepożądanych.

Modulacja efektów opioidów poprzez inhibitory aktywacji gleju

Ból neuropatyczny charakteryzuje się opornością na działanie leków przeciwbólowych [38, 50, 76, 79–82], a badania ostatnich lat wskazują, że zaktywowane komórki mikrogleju biorą istotny udział w jego rozwoju [83–86]. Komórki glejowe (astroglej, oligodentocyty, mikroglej) reprezentują 70% komórek ośrodkowego układu nerwowego [87]. Wyniki ostatnich badań neuroimmunologicznych zmian z wykorzystaniem profilowania ekspresji genów u zwierząt doświadczalnych w modelu bólu neuropatycznego dowiodły, że aktywacja kaskad ekspresji genów jest konieczna do powstania i utrzymania tego bólu [88, 89]. Wskazuje to na ogromną złożoność endogennych czynników inicjujących i regulujących stany bólu neuropatycznego. Zaktywowane komórki mikrogleju zaczynają produkować również wiele związków prozapalnych, jak cytokiny (IL-1 α , IL-1 β , TNF α , IL-6), chemokiny (fraktalkina, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1) i związki cytotoksyczne (iNOS, wolne rodniki tlenowe i azotowe) [85, 86, 90–92]. Ponadto dochodzi do indukcji różnych receptorów powierzchniowych (np. TNFR1, TNFR2, IL-1RI, CX₃CR1), które przyspieszają odpowiedź immunologiczną [90, 93]. Badania ostatnich lat wykazały, że inhibitory gleju, jak: propentofylina, pentoksyfilina, fluorocytynian i minocyklina, hamują wydzielanie licznych cytokin dzięki zmniejszaniu aktywacji mikrogleju i w ten sposób hamują rozwój bólu neuropatycznego [83, 93–96].

Ciekawe, że neuroimmunologiczne zmiany zachodzące podczas rozwoju bólu neuropatycznego oraz w tolerancji morfinowej na poziomie molekularnych mechanizmów wydają się podobne i dotyczą aktywacji komórek mikrogleju [79, 84–86, 88, 95]. Wykazano, że przewlekłe podania morfiny w bólu neuropatycznym dodatkowo nasilają proliferację mikrogleju, przyczyniając się do rozwoju tolerancji [84, 95, 97]. Mechanizm wpływu morfiny na glej nie jest wciąż poznany, wiadomo tylko, że pod wpływem morfiny mikroglej zmienia morfologię i funkcję, na przykład zwiększa wydzielanie prozapalnych cytokin — substancji hamujących efekty morfiny [85, 86, 92, 95, 97]. Wielu autorów wykazało, że poprzez cytokiny — zaktywowane przez morfinę — następują zmiany aktywacji kaskady kinaz MAPK i PKC, które w konsekwencji zmieniają wewnątrzkomórkowy przekaz [98]. Dlatego też kilka lat temu pojawiła się hipoteza, że zahamowanie aktywacji gleju może nie tylko osłabić rozwój bólu neuropatycznego, ale również poprawić efektywność morfiny i innych leków [85, 86, 91, 95, 99].

Pierwsze badania na zwierzęcym modelu przeprowadzili Song i Zhao [99]. Wykazali oni, że podanie glejowego inhibitora fluorocytrynianu obniża rozwój tolerancji morfinowej. Dalsze, również autorów niniejszej pracy, badania na zwierzęcych modelach bólu neuropatycznego wykazały, że propentofylina i pentoksyfilina poprawiają analgetyczne właściwości morfiny w stanie zapalnym [100, 101]. Ostatnio uzyskano podobne efekty, podając pentoksyfilinę pacjentom w klinice [102], a wyniki tych badań dowiodły, że pentoksyfilina znacznie zmniejsza zapotrzebowanie na morfinę w okresie pooperacyjnym u osób poddanych cholecystektomii. U tych pacjentów zaobserwowano po operacji obniżenie we krwi stężenia TNF α i IL-6. Ostatnie badania kliniczne Lu i wsp. [103] potwierdziły, że pentoksyfilina łagodzi ból pooperacyjny i bardzo korzystnie podnosi efektywność morfiny, a także powoduje szybszy powrót funkcji jelita. Autorzy wykazali, że efekty te wiążą się ze zmianami w produkcji IL-6, IL-8 i antagonisty receptora IL-1 w okresie pooperacyjnym.

Wyniki badań (autorów niniejszej pracy i innych), które prowadzono na myszach i szczurach, sugerują, że w bólu neuropatycznym pentoksyfilina, jak również minocyklina osłabiają rozwój bólu neuropatycznego u myszy i szczurów oraz istotnie nasilają efektywność morfiny w modelu bólu neuropatycznego [83, 84, 104]. Przewlekłe podania morfiny u zwierząt neuropatycznych powodują całkowity

rozwój tolerancji, natomiast inhibitory gleju opóźniają go [84, 97]. Wyniki *western blot* i immunohistochemii wskazują, że minocyklina i pentoksyfilina, obniżając stopień aktywacji mikrogleju, silnie opóźniają rozwój tolerancji morfinowej, który następuje w wyniku przewlekłych podań morfiny [84, 97]. Minocyklina dobrze przechodzi przez barierę krew–mózg i dlatego wydaje się obiecującą substancją w terapii bólu neuropatycznego. Jest już stosowana w klinice w leczeniu choroby Parkinsona i wykazuje właściwości neuroprotektoryjne, brak natomiast danych klinicznych dotyczących jej wykorzystania w bólu neuropatycznym.

Badania prowadzone przez Ledebøer i wsp. [105] na zwierzętach w modelach bólu neuropatycznego wykazały, że ibudilast (AV411), który jest nieselektywnym inhibitorem fosfodiesteraz, hamuje aktywację komórek glejowych, podnosi stężenie IL-10, obniża stężenie IL-1 β , TNF α , IL-6 oraz zwiększa efektywność morfiny. Obecnie w Australii trwają badania przedkliniczne, a ich wyniki potwierdzają, że ibudilast łatwo przechodzi przez barierę krew–mózg, jest dobrze tolerowany, może być stosowany doustnie, redukuje aktywację gleju, zmniejsza symptomy bólu neuropatycznego i nasila analgezję morfinową [106].

Zrozumienie molekularnych mechanizmów zachodzących w systemach opioidowych w bólu przewlekłym, ze szczególnym uwzględnieniem interakcji komórek mikrogleju z neuronami, powinno wyznaczyć nowe, skuteczniejsze metody farmakoterapii bólu. Farmakologiczne zahamowanie aktywacji gleju, w połączeniu z morfiną, metadonem, fentanylem i buprenorfiną, może stanowić ważny aspekt terapii bólu. Długotrwałe stosowanie klasycznych opioidowych leków przeciwbólowych u pacjentów z przewlekłymi procesami bólowymi powoduje pojawienie się tolerancji, a poszukiwanie nowych strategii leczenia na podstawie poznanych mechanizmów bólu stanowi istotny problem, zarówno kliniczny, jak i naukowy.

Podziękowanie

Bardzo dziękuję Pani Prof. Barbarze Przewłockiej za dyskusję i cenne uwagi krytyczne pomocne mi w czasie pisania tej pracy.

Praca była sponsorowana przez działalność statutową Zakładu Farmakologii Bólu Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

Piśmiennictwo

- Faden A.I., Jacobs T.P. Dynorphin-related peptides cause motor dysfunction in the rat through a non-opiate action. *Br. J. Pharmacol.* 1984; 81: 271–276.
- Faden A.I. Opioid and nonopioid mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann. Neurol.* 1990; 27: 67–74.
- Obara I., Mika J., Schafer M.K., Przewlocka B. Antagonists of the kappa-opioid receptor enhance allodynia in rats and mice after sciatic nerve ligation. *Br. J. Pharmacol.* 2003; 140: 538–546.
- Walker J.M., Moises H.C., Coy D.H., Young E.A., Watson S.J., Akil H. Dynorphin (1–17): lack of analgesia but evidence for non-opiate electrophysiological and motor effects. *Life Sci.* 1982; 31: 1821–1824.
- Przewlocki R., Shearman G.T., Herz A. Mixed opioid/nonopioid effects of dynorphin and dynorphin related peptides after their intrathecal injections in rats. *Neuropeptides* 1983; 3: 233–240.
- Przewlocki R., Stala L., Greczek M., Shearman G.T., Przewlocka B. Analgesic effect of mu, delta and kappa opiate agonists and particularly dynorphin at the spinal level. *Life Sci.* 1983b; 33: 649–652.
- Przewlocki R., Przewlocka B. Opioids in neuropathic pain. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11: 3013–3025.
- Trescot A.M., Datta S., Lee M., Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician* 2008; 11: S133–S153. Review.
- Zadina J.E., Hackler L., Lin-Jun G., Kastin A.J. A potent and selective endogenous agonist for the m-opiate receptor. *Nature* 1997; 386: 499–502.
- Martin-Schild S., Gerall A.A., Kastin A.J., Zadina J.E. Endomorphin-2 is an endogenous opioid in primary sensory afferent fibers. *Peptides* 1998; 19: 1783–1789.
- Przewlocki R., Labuz D., Mika J., Przewlocka B. Pain inhibition by endomorphins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999; 897: 154–164. Review.
- Przewlocka B., Mika J., Labuz D., Toth G., Przewlocki R. Spinal analgesic action of endomorphins in acute, inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1999; 367: 189–196.
- Hölt V. Opioid peptide genes: Structure and regulation. W: Almeida O.F.X., Shippenberg T.S. red. *Neurobiology of opioids*. Springer-Verlag, Berlin 1991: 2.
- Simon E.J., Gioannini L.T. Opioid receptor multiplicity: isolation, purification and chemical characterization of binding sites. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids I*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 3–36.
- Minami M., Satoh M. Molecular biology of the opioid receptors: structures, functions and distributions. *Neurosci. Res.* 1995; 23: 121–145.
- Evans C., Keith D., Morrison H., Magendzo K., Edwards R. Cloning of delta opioid receptor by functional expression. *Science* 1992; 258: 1952–1955.
- Kieffer B.L., Befort K., Gaveriaux-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., Hurlkley J., Yu L. Molecular cloning and functional expression of mu-opioid receptor from rat brain. *Mol. Pharmacol.* 1993a; 44: 8–12.
- Yasuda K., Raynor K., Kong H., Breder C., Takeda J., Reisine T., Bell G.I. Cloning and functional expression of kappa and delta opioid receptors from mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90: 6736–6740.
- Wang J.B., Johnson P., Wu J.M., Wang F.W., Uhl G. Human kappa opiate receptor second extracellular loop evaluates dynorphin's affinity for human mu/kappa chimeras. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 25966–25969.
- Knapp R., Malatynska E., Fang L. i wsp. Identification of a human delta opioid receptor cloning and expression. *Life Sci.* 1994; 54: PL463–PL469.
- Mansson E., Bare L., Yang D. Isolation of a human kappa opioid receptor cDNA from placenta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 202: 1431–1437.
- 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.
- Reisine T. Neurotransmitter receptors V — opiate receptors. *Neuropharmacology* 1995; 34: 463–472.
- North R.A. Opioid action on membrane ion channels. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids I*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 773–796.
- Harrison L.M., Kastin A.J., Zadina J.E. Differential effects of endomorphin-1, endomorphin-2, and Tyr-W-MIF-1 on activation of G-proteins in SH-SY5Y human neuroblastoma membranes. *Peptides* 1998; 19: 749–753.
- Burford N.T., Tolbert L.M., Sadee W. Specific G protein activation and opioid receptor internalization caused by morphine, DAMGO and endomorphin I. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 342: 123–126.
- Pasternak G.W., Standifer K.M. Mapping of opioid receptors using antisense oligodeoxynucleotides: correlating their molecular biology and pharmacology. *TIPS* 1995; 16: 344–350.
- Pasternak G.W. Multiple mu opiate receptors. W: *Atlas of science: Pharmacology* 1988: 148–154.
- Pasternak G.W. Incomplete cross tolerance and multiple mu opioid peptide receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 2001; 22: 67–70. Review.
- Mika J., Przewlocki R., Przewlocka B. The role of delta-opioid receptor subtypes in neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 415: 31–37.
- Mattia A., Farmer S.C., Takemori A.E. i wsp. Spinal opioid delta antinociception in the mouse: mediation by a 5'-NTII-sensitive delta receptor subtype. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992; 260: 518–525.
- Lai J., Bilsky E.J., Rothman R.B., Porreca F. Treatment with antisense oligodeoxynucleotide to the opioid d receptor selectively inhibits δ_2 -agonist antinociception. *Neuroreport* 1994; 5: 1049–1052.
- Chavkin C., James I.F., Goldstein A. Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science* 1982; 215: 413–415.
- Fields H.L. Brain stem mechanisms of pain modulation: anatomy and physiology. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids II*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 3–20.
- Langwiński R. Ból a neuroprzeżywalność. W: Przewlocka B. red. *Ból. Skrypt Szkoły Zimowej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie*. Kraków 1985.
- Khachaturian H., Schäfer M.K.H., Lewis M.E. Anatomy and function of the endogenous opioid systems. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids I*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 471–488.
- Porreca F., Burks T.F. Spinal opioid receptors in antinociception. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids II*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 21–44.
- Yaksh T.L. The spinal actions of opioids. W: Herz A. red. *Handbook of Experimental Pharmacology, Opioids II*. Springer-Verlag, Berlin 1993: 53–76.
- Mansour A., Thompson R.C., Akil H., Watson S.J. Delta opioid receptor mRNA distribution in the brain: comparison

- son to delta receptor binding and proenkephalin mRNA. *J. Chem. Neuroanat.* 1993; 6: 351–362.
41. Mansour A., Fox C., Akil H., Watson S.J. Opioid receptor mRNA expression in the CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci.* 1995; 18: 22–29.
 42. Schäfer M.K., 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.
 43. Draisci G., Kajander K.C., Dubner R., Bennett G.J., Iadarola M.J. Up regulation of opioid gene expression in spinal cord evoked by experimental nerve injuries and inflammation. *Brain Res.* 1991; 560: 186–192.
 44. Loh H.H., Liu H.C., Cavalli A., Yang W., Chen Y.F., Wei L.N. mu Opioid receptor knockout in mice: effects on ligand-induced analgesia and morphine lethality. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1998; 54: 321–326.
 45. Stevens C.W., Yaksh T.L. Dynorphin A and related peptides administered intrathecally in the rat: a search for putative kappa opiate receptor activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1986; 238: 833–838.
 46. Laughlin T.M., Vanderah T.W., Lashbrook J. i wsp. Spinally administered dynorphin A produces long-lasting allodynia: involvement of NMDA but not opioid receptors. *Pain* 1997; 72: 253–260.
 47. Hu W.H., Zhang C.H., Yang H.F. i wsp. Mechanism of the dynorphin-induced dualistic effect on free intracellular Ca²⁺ concentration in cultured rat spinal neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 342: 325–332.
 48. Antkiewicz-Michaluk L., Michaluk J., Romanska I., Vetulani J. Reduction of morphine dependence and potentiation of analgesia by chronic co-administration of nifedipine. *Psychopharmacology (Berl)* 1993; 111: 457–464.
 49. Nichols M.L., Lopez Y., Ossipov M.H., Bian D., Porreca F. Enhancement of the antiallodynic and antinociceptive efficacy of spinal morphine by antisera to dynorphin A (1–13) or MK-801 in a nerve-ligation model of peripheral neuropathy. *Pain* 1997; 69: 317–322.
 50. Ossipov M.H., Lopez Y., Nichols M.L., Bian D., Porreca F. The loss of antinociceptive efficacy of spinal morphine in rats with nerve ligation injury is prevented by reducing spinal afferent drive. *Neurosci. Lett.* 1995; 199: 87–90.
 51. Kotlińska-Lemieszek A., Jacek Łuczak J., Ewa Bączek E. Miejsce ketaminy w leczeniu bólu nowotworowego. *Pol. Med. Paliat.* 2003; 2, 1, 61–70.
 52. Kalso E., Allan L., Dellemijn P. i wsp. Recommendations for using opioids in chronic non-cancer pain. *Eur. J. Pain* 2003; 7: 381–386.
 53. Dobrogowski J., Przeklasa-Muszyńska A., Woroń J., Wordliczek J. Zasady kojarzenia leków w terapii bólu. *Med. Paliat. Prakt.* 2007; 1: 6–15.
 54. Dobrogowski J., Wordliczek J., Przeklasa-Muszyńska A. Zastosowanie silnie działających opioidów w leczeniu bólu nienowotworowego. *Med. Paliat. Prakt.* 2007; 1: 43–48.
 55. Fields H.L. Should we be reluctant to prescribe opioids for chronic non-malignant pain? *Pain* 2007; 129: 233–234.
 56. Hanks G.W., Conno F., Cherny N. i wsp. Expert Working Group of the Research Network of the European Association for Palliative Care. Morphine and alternative opioids in cancer pain: the EAPC recommendations. *Br. J. Cancer* 2001; 84: 587–593.
 57. Ripamonti C., Groff L., Brunelli C., Polastri D., Stavakis A., De Conno F. Switching from morphine to oral methadone in treating cancer pain: what is the equianalgesic dose ratio? *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 3216–3221.
 58. Kalso E., Allan L., Dobrogowski J. i wsp. Do strong opioids have a role in the early management of back pain? Recommendations from a European expert panel. *Curr. Med. Res. Opin.* 2005; 21: 1819–1828.
 59. Labuz D., Przewlocki R., Przewlocka B. Cross-tolerance between the different mu-opioid receptor agonists endomorphin-1, endomorphin-2 and morphine at the spinal level in the rat. *Neurosci. Lett.* 2002; 334: 127–130.
 60. Krajnik M., Żylicz Z. Metadon w leczeniu bólu nowotworowego. *Pol. Med. Paliat.* 2002; 1: 15–22.
 61. Mercadante S. Predictive factors and opioid responsiveness in cancer pain. *Eur. J. Cancer* 1998; 34: 627–631.
 62. Baconja M.M., Irving G., Argoff C. Rationale multidrug therapy in the treatment of neuropathic pain. *Curr. Pain Headache Rep.* 2006; 10: 34–38.
 63. Meunier J.C. Nociceptin/orphanin FQ and the opioid receptor-like ORL1 receptor. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; 340: 1–15.
 64. 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.
 65. Hao J.X., Xu I.S., Wiesenfeld-Hallin Z., Xu X.J. Anti-hyperalgesic and anti-allodynic effects of intrathecal nociceptin/orphanin FQ in rats after spinal cord injury, peripheral nerve injury and inflammation. *Pain* 1998; 76: 385–393.
 66. Hao J.X., Yu W., Wiesenfeld-Hallin Z., Xu X.J. Treatment of chronic allodynia in spinally injured rats: effects of intrathecal selective opioid receptor agonists. *Pain* 1998; 75: 209–217.
 67. Mollereau C., Simons M.J., Soularue P. i wsp. Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 8666–8670.
 68. Mogil J.S., Pasternak G.W. The molecular and behavioral pharmacology of the orphanin FQ/nociceptin peptide and receptor family. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53: 381–415.
 69. Mika J., Li Y., Weihe E., Schafer M.K. Relationship of pronociceptin/orphanin FQ and the nociceptin receptor ORL1 with substance P and calcitonin gene-related peptide expression in dorsal root ganglion of the rat. *Neurosci. Lett.* 2003; 348: 190–194.
 70. Erb K., Liebel J.T., Tegeder I., Zeilhofer H.U., Brune K., Geisslinger G. Spinally delivered nociceptin/orphanin FQ reduces flinching behaviour in the rat formalin test. *Neuroreport* 1997; 8: 1967–1970.
 71. Yamamoto T., Nozaki-Taguchi N., Kimura S. Effects of intrathecally administered nociceptin, an opioid receptor-like (ORL1) receptor agonist, on the thermal hyperalgesia induced by unilateral constriction injury to the sciatic nerve in the rat. *Neurosci. Lett.* 1997; 224: 107–110.
 72. Grisel J.E., Mogil J.S., Belknap J.K., Grandy D.K. Orphanin FQ acts as a supraspinal, but not a spinal, anti-opioid peptide. *Neuroreport* 1996; 7: 2125–2129.
 73. Tian J.H., Xu W., Fang Y. i wsp. Bidirectional modulatory effect of orphanin FQ on morphine-induced analgesia: antagonism in brain and potentiation in spinal cord of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 1997; 120: 676–680.
 74. Mogil J.S., Grisel J.E., Zhangs G., Belknap J.K., Grandy D.K. Functional antagonism of mu-, delta- and kappa-opioid antinociception by orphanin FQ. *Neurosci. Lett.* 1996; 214: 131–134.
 75. Calo G., Guerrin R., Bigoni R. i wsp. Characterization of [Nphe(1)]nociceptin(1-13)NH(2), a new selective nociceptin receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 129: 1183–1193.
 76. Mika J., Schafer M.K., Obara I., Weihe E., Przewlocka B. Morphine and endomorphin-1 differently influence pronociceptin/orphanin FQ system in neuropathic rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2004; 78: 171–178.
 77. Ueda H., Yamaguchi T., Tokuyama S., Inoue M., Nishi M., Takeshima H. Partial loss of tolerance liability to morphine

- ne analgesia in mice lacking the nociceptin receptor gene. *Neurosci. Lett.* 1997; 237: 136–138.
78. Obara I., Przewlocki R., Przewlocka B. Spinal and local peripheral antiallodynic activity of Ro64-6198 in neuropathic pain in the rat. *Pain* 2005; 116: 17–25.
 79. Mayer D.J., Mao J., Holt J., Price D.D. Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 7731–7736.
 80. Przewlocki R., Machelska H., Przewlocka B. Inhibition of nitric oxide synthase enhances morphine antinociception in the spinal cord. *Life Sci.* 1993; 53: PL1–PL5.
 81. Machelska H., Labuz D., Przewlocki R., Przewlocka B. Inhibition of nitric oxide synthase enhances antinociception mediated by mu, delta and kappa opioid receptors in acute and prolonged pain in the rat spinal cord. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997; 282: 977–984.
 82. Machelska H., Ziolkowska B., Mika J., Przewlocka B., Przewlocki R. Chronic morphine increases biosynthesis of nitric oxide synthase in the rat spinal cord. *Neuroreport* 1997; 8: 2743–2747.
 83. Mika J., Osikowicz M., Makuch W., Przewlocka B. Minocycline and pentoxifylline attenuate allodynia and hyperalgesia and potentiate the effects of morphine in rat and mouse models of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 2007; 560: 142–149.
 84. Mika J., Wawrzczak-Bargiela A., Osikowicz M., Makuch W., Przewlocka B. Attenuation of morphine tolerance by minocycline and pentoxifylline in naive and neuropathic mice. *Brain Behav. Immun.* 2009; 23: 75–84.
 85. Watkins L.R., Hutchinson M.R., Johnston I.N., Maier S.F. Glia: novel counter-regulators of opioid analgesia. *Trends Neurosci.* 2005, 28, 661–669.
 86. Watkins L.R., Hutchinson M.R., Ledebner A., Wieseler-Frank J., Milligan E.D., Maier S.F. Norman Cousins Lecture. Glia as the „bad guys”: implications for improving clinical pain control and the clinical utility of opioids. *Brain Behav. Immun.* 2007; 21: 131–146.
 87. Watkins L.R., Milligan E.D., Maier S.F. Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 521: 1–21.
 88. Colburn R.W., Rickman A.J., DeLeo J.A. The effect of site and type of nerve injury on spinal glial activation and neuropathic pain behavior. *Exp. Neurol.* 1999; 157: 289–304.
 89. Rodriguez Parkitna J., Korostynski M., Kaminska-Chowaniec D. i wsp. Comparison of gene expression profiles in neuropathic and inflammatory pain. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006; 57: 401–414.
 90. Aloisi F. Immune function of microglia. *Glia* 2001; 36: 165–179.
 91. DeLeo J.A., Yeziarski R.P. The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain. *Pain* 2001; 90: 1–6.
 92. Mika J., Korostynski M., Kaminska D. i wsp. Interleukin-1alpha has antiallodynic and antihyperalgesic activities in a rat neuropathic pain model. *Pain* 2008; 138: 587–597.
 93. Watkins L.R., Milligan E.D., Maier S.F. Spinal cord glia: new players in pain. *Pain* 2001; 93: 201–205.
 94. Mika J. Modulation of microglia can attenuate neuropathic pain symptoms and enhance morphine effectiveness. *Pharmacol. Rep.* 2008; 60: 297–307.
 95. Raghavendra V., Tanga F.Y., DeLeo J.A. Attenuation of morphine tolerance, withdrawal-induced hyperalgesia, and associated spinal inflammatory immune responses by propentofylline in rats. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 327–334.
 96. Sweitzer S.M., Schubert P., DeLeo J.A. Propentofylline, a glial modulating agent, exhibits antiallodynic properties in a rat model of neuropathic pain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001; 297: 1210–1217.
 97. Cui Y., Liao X.X., Liu W. i wsp. A novel role of minocycline: attenuating morphine antinociceptive tolerance by inhibition of p38 MAPK in the activated spinal microglia. *Brain Behav. Immun.* 2008; 22: 114–123.
 98. Piao Z.G., Cho I.H., Park C.K. i wsp. Activation of glia and microglial p38 MAPK in medullary dorsal horn contributes to tactile hypersensitivity following trigeminal sensory nerve injury. *Pain* 2006; 121: 219–231.
 99. Song P., Zhao Z.Q. The involvement of glial cells in the development of morphine tolerance. *Neurosci. Res.* 2001; 39: 281–286.
 100. Dorazil-Dudzic M., Mika J., Schafer M.K. i wsp. The effects of local pentoxifylline and propentofylline treatment on formalin-induced pain and tumor necrosis factor-alpha messenger RNA levels in the inflamed tissue of the rat paw. *Anesth. Analg.* 2004; 98: 1566–1573.
 101. Lundblad R., Ekstrom P., Giercksky K.E. Pentoxifylline improves survival and reduces tumor necrosis factor, interleukin-6, and endothelin-1 in fulminant intra-abdominal sepsis in rats. *Shock* 1995; 3: 210–215.
 102. Wordliczek J., Szczepanik A.M., Banach M. i wsp. The effect of pentoxifylline on post-injury hyperalgesia in rats and postoperative pain in patients. *Life Sci.* 2000; 66: 1155–1164.
 103. Lu C.H., Chao P.C., Borel C.O. i wsp. Preincisional intravenous pentoxifylline attenuating perioperative cytokine response, reducing morphine consumption, and improving recovery of bowel function in patients undergoing colorectal cancer surgery. *Anesth. Analg.* 2004; 99: 1465–1471.
 104. Ledebner A., Sloane E.M., Milligan E.D. i wsp. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain facilitation. *Pain* 2005; 115: 71–83.
 105. Ledebner A., Hutchinson M.R., Watkins L.R., Johnson K.W. Ibudilast (AV-411). A new class therapeutic candidate for neuropathic pain and opioid withdrawal syndromes. *Exp. Opin. Investig. Drugs* 2007; 16: 935–950.
 106. Avigen-homepage <http://www.avigen.com/>