

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**

**KATEDRA FYZIOLOGIE ŽIVOČICHŮ**



Gabriela Jandová

**Endogenní opioidy a jejich fyziologický význam  
Endogenous opioids and their physiological significance**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha 2011

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 2. května 2011

.....  
Gabriela Jandová

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat panu RNDr. Jiřímu Novotnému, DSc. za ochotu a cenné rady při psaní této práce. Dále bych pak ráda poděkovala své rodině a přátelům za podporu a povzbuzení.

## **Abstrakt**

Tato práce se zabývá vlivem endogenního opioidního systému na fyziologické procesy. Látky opioidní povahy a jejich receptory se nachází nejen v centrální, ale i periferní nervové soustavě, stejně jako i v dalších tkáních. Endogenní opioidy vznikají v těle a ovlivňují široké spektrum fyziologických funkcí. Jsou to regulátory bolesti, emocí, dýchání, paměti, homeostatických funkcí atd. Vzhledem k této rozmanitosti a šíři jejich účinku mohou mít mnoho možností lékařského využití, ať už na poli kardiologie, anesteziologie či psychiatrie. Samotné pochopení fungování opioidního systému je základním předpokladem pro hlubší studium většiny fyziologických procesů, neboť je tento systém více či méně ovlivňuje. Dodnes je proto studiu opioidního systému a novým objevům na tomto poli věnována velká pozornost.

**Klíčová slova:** Opioidní systém, endogenní opioidy, receptory, nervová soustava, fyziologické funkce, bolest, emoce, dýchání, paměť, homeostáza

## **Abstract**

This study examines the influence of endogenous opioid system on physiological processes. Opioid substances and their receptors are located not only in central but also in peripheral nervous systems, as well as in other tissues. Endogenous opioids are produced in the body and influence a wide-range of physiological functions. They are regulators of pain, emotions, breathing, memory, homeostatic functions, etc. Due to their diversity and variety of effects, they may have many possible medical uses, whether in the field of cardiology, anesthesiology or psychiatry. Since the opioid system influences many physiological processes, the understanding of its properties and functioning is prerequisite for deeper study of those processes. Therefore, the study of opioid system and new discoveries in this field receive a great deal of attention nowadays.

**Key words:** Opioid system, endogenous opioids, receptors, nervous system, physiological functions, pain, emotions, breathing, memory, homeostasis

## Obsah

<b>1. Seznam zkratk</b> .....	6
<b>2. Úvod</b>	
2.1. Základní informace.....	7
2.2. Historie.....	7
<b>3. Opioidy a opioidní signalizace</b>	
3.1. Opioidní receptory	
3.1.1. Charakterizace.....	8
3.1.2. Struktura .....	8
3.1.3. Tkáňová distribuce.....	9
3.1.4. Typy.....	11
3.1.5. Mechanismus přenosu informace.....	12
3.2. Opioidní agonisté.....	14
3.3. Smíšené agonisté-antagonisté.....	15
3.4. Antagonisté	
3.4.1. Charakterizace.....	16
3.4.2. Struktura.....	16
3.4.3. Často používané antagonisty.....	16
<b>4. Endogenní opioidy</b>	
4.1. Charakterizace.....	18
4.1.1. Endorfiny.....	20
4.1.2. Enkefaliny.....	21
4.1.3. Dynorfiny.....	22
4.1.4. Endomorfiny.....	23
4.1.5. Nocieptin/ orfanin FQ.....	24
4.2. Fyziologické účinky	
4.2.1. Stres.....	25
4.2.2. Příjem potravy.....	26
4.2.3. Gastrointestinální a renální funkce.....	27
4.2.4. Paměť.....	27
4.2.5. Emoce.....	28
4.2.6. Sexuální aktivita, těhotenství.....	29
4.2.7. Respirace.....	29
4.2.8. Kardiovaskulární funkce.....	30
4.2.9. Imunologické odpovědi.....	31
<b>5. Závěr</b> .....	32
<b>6. Literatura</b> .....	33

## 1. Seznam zkratek

ACTH	adrenokortikotropní hormon
AMP	adenosine monofosfát
BNTX-7	benzylidenenaltroxon
cAMP	cyklický adenosine monofosfát
CGRP	calcitonin-gen příbuzné peptidy
CLIP	corticotropin-like intermediate lobe peptide
CPA	podmíněná averze místa
CPP	podmíněná preference místa
CTOP	D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp Orn-Thr-Pen-Thr-NH <sub>2</sub>
DA systém	dopaminový systém
DALA	D-Ala <sup>2</sup> -Met-Enkefalinamid
DAMGO	[D-Ala <sup>2</sup> , N-MePhe <sup>4</sup> , Gly-ol]-enkefalin
DOR	delta opioidní receptor
DPDPE	[D-Pen 2, D-Pen 5]enkefalin
DRG	dorsal root ganglion
DSLET	[D-Ser 2, Leu 5]enkefalin-Thr 6
EK	ethylketocyclazosin
GDP	guanosin difosfát
GIRK1	G protein-insensitive inward rectifier
GPCR	receptory spřažené s G proteiny
GRK	kináza receptorů spřažených s G proteiny
GTP	guanosin trifosfát
ICI 154,129	N,N-bisallyl-Tyr-Gly-Gly-Psi-(CH <sub>2</sub> S)-Phe-Leu-OH
KOR	kappa opioidní receptor
MEAP	Met-enkefalin-Arg-Phe
MOR	mu opioidní receptor
MSH	melanocyty-stimulující hormon
NOR	nociceptin/orfanin FQ receptor
NOR-BNI	nor-binaltorphimine
NTB	benzofuranový derivát naltrindolu
PAG	periaqueduktální šedá hmota
PKA	Protein kinasa A
POMC	pre-proopiomelanocortin
SIA	stresem indukovaná analgesie
SNL	spinal nerve ligation
TM	transmembránový
U50,488H	<i>trans</i> -(±)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]benzeneacetamide methanesulfonate salt
U69, 593	N-Methyl-N-(7-(1-pyrrolidinyl)-1-oxaspiro(4,5)dec-8-yl)benzeneacetamide
VTA	ventrální tegmentální oblast

## 2. Úvod

### 2.1. Základní informace

Opioidy jsou látky peptidické povahy, které jsou schopné se vázat na opioidní receptory. Už několik tisíc let jsou využívány k léčbě bolesti. Některé opioidy jako například heroin fungují na principu napodobování přirozeně se v těle tvořících látek zvaných endogenní opioidy. V roce 1973 Candace Pert provedl pokus s radioaktivně značeným morfinem k určení místa účinku a zjistil, že se morfin vázal na velmi specifická místa v mozku - „morfinové receptory“ (Pert and Snider, 1973). Díky myšlence, že u myši není žádný logický důvod, aby měla v mozku receptory pro cizorodý alkaloid rostlinného původu, začalo hledání stimulantu těchto receptorů, který by ovšem byl endogenního původu. V roce 1975 publikovali John Hughes a Hans Kosterlitz svou práci, ve které představili svůj objev endogenních morfinů nebo též endorfinů. (Hughes et al. 1975). Od té doby se objasnila spousta věcí o základní biologii endogenního opioidního systému, jeho molekulární a biochemické komplexitě, anatomii a diverzitě. Zjistilo se, že opioidní látky a jejich receptory se nacházejí v centrální i periferní nervové soustavě, a také v dalších tkáních.

Byla dokázána existence endogenního opioidního systému ovlivňujícího široké spektrum fyziologických funkcí. Nejznámější je jeho role především v inhibici bolesti, ovlivňování gastrointestinálních a endokrinních funkcí a vliv na emoce a paměť. Endogenní opioidní systém je složitý a obsahuje velkou škálu endogenních ligandů (více než 12), které se váží na receptory 4 hlavních typů.

### 2.3. Historie

Mák setý, *Papaver somniferum* (Papaveraceae), je jedna z nejdéle lékařsky využívaných rostlin. První zmínka nalezená na sumerských hliněných tabulkách o pěstování máku a sbírání makových šťáv k výrobě opia pochází zhruba již z roku 3000 př.n.l. Opium bylo postupně rozšířeno do celého světa. V Evropě bylo zpopularizováno díky lékaři Paracelsovi (1493-1541), který ho připravoval při výrobě laudana. Opium obsahuje více než 20 různých alkaloidů jež se podílejí na jeho účinku. Jeden z nejvýznamějších je morfin, který byl izolován roku 1806 Friedrichem Wilhelmem Adamem Sertürnerem (Shiff, 2002). Morfin, pojmenovaný podle řeckého boha snů Morfea, je dodnes jedním z nejvíce účinných analgetik. Dalšími zanedlouho objevenými alkaloidy byly codein (Robiquet v roce 1833), papaverin (Merck v roce 1848) a narcotin (Robiquet v roce 1817; Goodman & Gilman's, 2006).

Samotný endogenní opioidní systém nebyl znám až do počátku 70. let 20. století. V roce 1973 byla prokázána vazebná místa pro opioidy v mozku za pomoci testu využívajícího vazbu radioaktivně značených ligandů (Pert a Snyder, 1973; Simon et al., 1973; Terenius, 1973). Prvním z objevených endogenních opioidů byl enkefalin (Hughes et al. 1975). Zanedlouho poté byly izolovány další typy opioidních peptidů, a to dynorfiny a endorfiny (Akil et al., 1984).

Souběžně s výzkumy endogenních opioidů probíhaly i pokusy zabývající se opioidními receptory. V práci provedené in vivo na psech (Martin et al, 1976) byla prokázána existence několika typů opioidních receptorů. Všechny 3 základní typy opioidních receptorů -  $\mu$  (MOP),  $\delta$  (DOP),  $\kappa$  (KOP) - jsou dnes již naklonovány (Thompson et al., 1993, Evans et al., 1993, Meng et al., 1993). Dalšími objevenými subtypy jsou pak například  $\iota$  (Oka, 1980),  $\lambda$  (Grevel a Sadee, 1983) a  $\zeta$  (Zagon et al., 1989). Názvosloví těchto receptorů se již několikrát změnilo a dnes oficiální vyjádření International Union of Pharmacology stanovuje tyto názvy takto: MOP ( $\mu$ ), KOP ( $\kappa$ ), DOP ( $\delta$ ) a NOP pro nociceptin orfanin FQ peptidový receptor (Dhawan et al., 1996).

### 3. Opioidy a opioidní signalizace

#### 3.1. Opioidní receptory

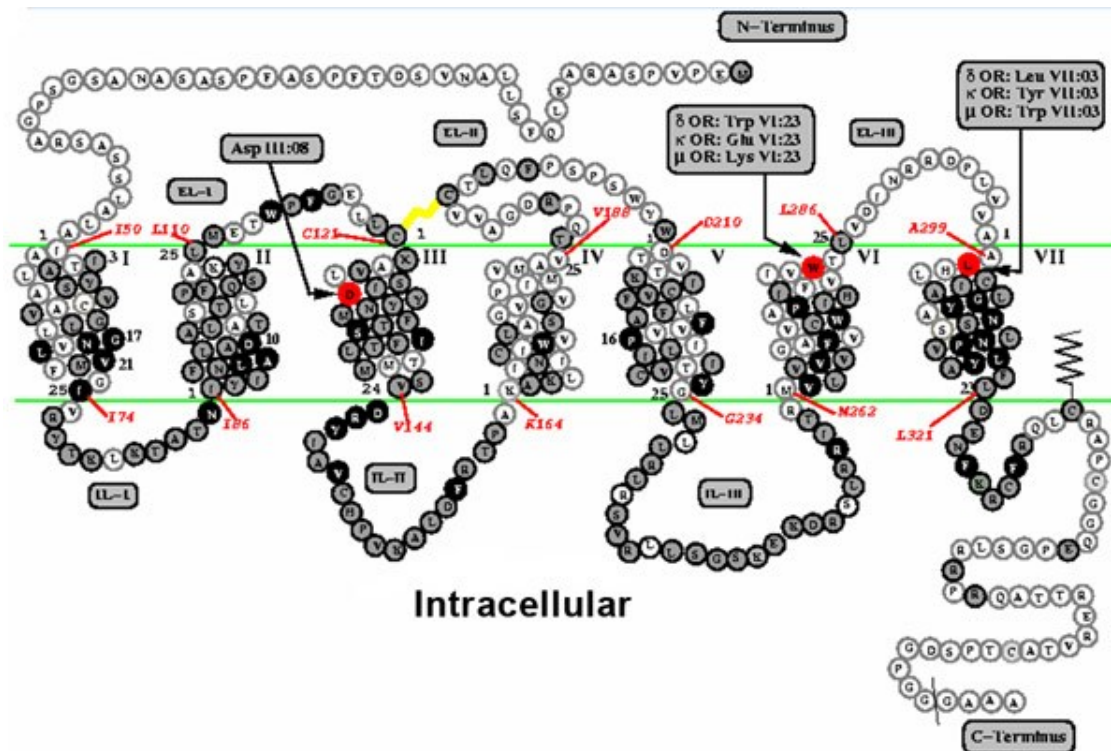
##### 3.1.1. Charakterizace

Opioidní receptory jsou široce rozšířeny v centrálním nervovém systému a dělí se do 3 základních skupin:  $\mu$ ,  $\delta$ , a  $\kappa$ . Nedávno byl také objeven N/OFQ receptor nazývaný též nociceptin/orfanin FQ opioidní receptor. (Tab. 1) Objevení těchto skupin receptorů nebylo možné až do doby, kdy byly k dispozici vysoce selektivní ligandy, které umožnili rozlišit tyto 3 základní skupiny. K tomu došlo na začátku devadesátých let 20. století a použity byly látky DAMGO pro  $\mu$  (Handa et al., 1981), DPDPE pro  $\delta$  (Mosberg et al., 1983, a U-50,488 a pro  $\kappa$  (Vonvoigtlander et al., 1983).

##### 3.1.2. Struktura

Opioidní receptory řadíme do skupiny receptorů spřažených s G proteiny, což je velká skupina receptorů umístěných na povrchu buněk s typickými heterotrimerními GTP-vázajícími regulačními proteiny známými jako G proteiny. G proteiny jsou přenašeči signálu, kteří zprostředkovávají přenos signálu z receptoru k jednomu nebo více efektorovým proteinům. GPCR sdílí podobnou stavbu a procházejí 7 krát plasmatickou membránou ve formě svazku 7  $\alpha$  helixů (Obr. 1). G proteiny jsou složeny ze 3 samostatných proteinových podjednotek označovaných alfa, beta a gamma. Alfa podjednotka G proteinu se váže s guanosindifosfátem (GDP) tvoří s beta a gamma podjednotkami trimerní protein. V roce 2000 skupina vědců nechala zkrystalizovat hovězí rhodopsin a zveřejnila jeho trojrozměrnou strukturu (Palczewski et al., 2000). Tato práce podala přímý důkaz, že 7 hydrofobních regionů (20-25 aminokyselinových zbytků) tvoří alfa helixy, které prochází membránou, přičemž N- konec je umístěn extracelulárně a C- konec intracelulárně (Pierce et al., 2002).





Obr. 1.

Serpentýnový model  $\delta$  receptoru (Kane et al., 2006). Každý kruh obsahuje 1-písmenný kód odpovídající dané aminokyselině. Zelená linie označuje začátek a konec helixů. Šedé kruhy představují sekvence, které jsou zachovány u všech 3 typů ( $\mu$ ,  $\delta$ , a  $\kappa$ ). Černé kruhy představují sekvence, které jsou zachované mezi rhodopsinovou podtřídou GPCR. Každý transmembránový (TM) region je označen římskou číslicí. Na začátku a konci každého helixu jsou čísla arabské abecedy začínající 1 a končící 25 (variabilní, záleží na délce helixu). Tato čísla korespondují s pozicí sekvence v helixu. Například Asp v TM III je zapsáno jako III:08. Asp představuje asparát, EL - extracelulární smyčka, Glu - glutamin, IL - intracelulární smyčka, Leu-leucin, Lys-lysin, OR - opioidní receptor, trp - tryptophan, Tyr - tyrosin

### 3.1.3. Tkáňová distribuce

V CNS se nachází 5 hlavních oblastí kde je prokázána vysoká koncentrace opioidních receptorů (Obr. 2).

**Mozkový kmen** - opioidní receptory zde zprostředkovávají dýchání, kašel, nevolnost a zvracení, udržují krevní tlak a kontrolují žaludeční sekreci.

**Mediální thalamus** - tato oblast zodpovídá za bolest která je těžko lokalizovatelná a emočně ovlivněná

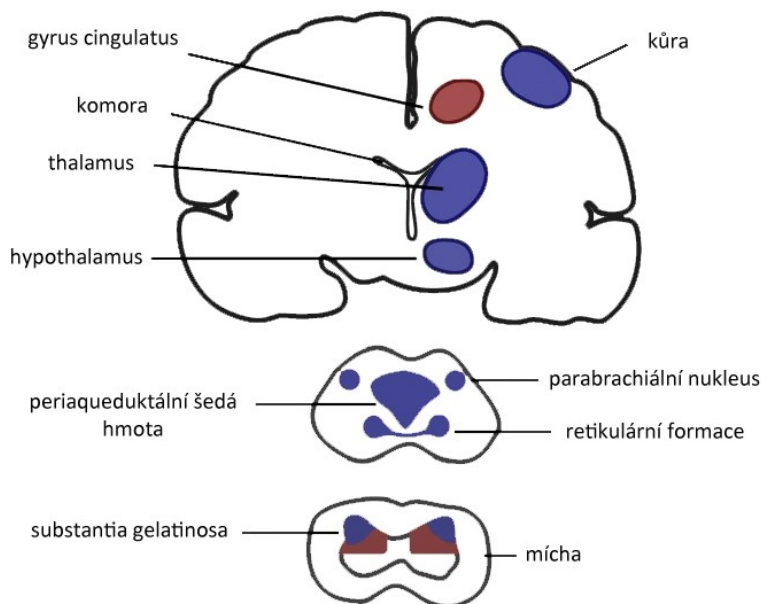
**Mícha** - receptory nacházející se v substantia gelatinosa se podílejí na zpracování příchozí smyslové informace vedoucí k utlumení bolestivého aferentního stimulu.

**Hypothalamus** - receptory zde ovlivňují neuroendokrinní sekreci

**Limbecký systém**-největší koncentrace opioidních receptorů v limbickém systému se nalézají v amygdale. Mohou ovlivňovat emoce.

**Periferie** – opioidy se také vážou na periferní smyslová nervová vlákna a jejich konce, kam jsou přemísťovány intraaxonálním transportem. Jejich přítomnost vyvolává expresi substance P a calcitonin-gen příbuzných peptidů (CGRP) v DRG (dorsal root ganglion) malých a středně velkých neuronech (Dado et al.,1993, Wenk et al., 1999). Dále byly prokázány opioidní receptory na nemyelinizovaných C a myelinizovaných A $\delta$  vláknech (Beland a Fitzgerald, 2001, Pare et al., 2001).

**Imunitní buňky** – místa vazající opioidy a jejich exprese byla prokázána i na buňkách imunitního systému. Opioidy zprostředkovávají modulace proliferace těchto buněk a jejich dalších funkcí (např. chemotaxe, produkce superoxidů a cytokinů) byla také zaznamenána. Tyto imunoregulační účinky mohou být jak inhibičního tak stimulačního charakteru (Sacerdote et al., 2003).



Obr. 2. Hlavní místa produkce endogenních opioidů a opioidních receptorů (Anupama et al., 2009)

### 3.1.4. Typy opioidních receptorů

Základní charakterizace opioidních receptorů je uvedena v Tab. 1.

#### DOR – $\delta$ opioidní receptor

Tento opioidní receptor byl naklonován roku 1992 na myších (Evans et al., 1992). Nejvyšší koncentrace toho typu receptoru jsou na čichovém bulbu, mozkové kůře, nucleus accumbens a caudate putamens. DOR jsou umístěny presynapticky a inhibují uvolnění neurotransmiterů. DOR také ovlivňují MOR. Jejich interakce může ovlivnit aktivitu MOR. Delta agonisté mohou zvýšit analgetickou aktivitu  $\mu$  agonistů (Abraham, 2003). DOR ovlivňují analgezi, snižují gastrointestinální motilitu a způsobují respirační útlum (Akil et al., 1998).

#### KOR – $\kappa$ opioidní receptor

Tento receptor byl naklonován roku 1993 na potkanovi. (Meng et al., 1993) Největší hustota těchto receptorů je na laterálním jádru amygdaly, čichovém bulbu, nucleus accumbens, thalamu a hypothalamu (především area preoptica) (Mansour et al., 1988). Kappa opioidní receptory se dělí do dvou podtříd  $\kappa_1$  a  $\kappa_2$  (Zukin et al., 1988). Většina  $\kappa$ -opioidních ligandů včetně dynorphinu A, U50, 488H, ethylketocyclazocinu, bremazocinu a tifluadonu se váže na obě podtřídy. U69, 593 se selektivně váže na  $\kappa_1$  (Fan Meng et al., 1993). KOR se podílí na regulaci nocicepce, diurezy, příjmu potravy, neuroendokrinních a imunitních funkcích (Herz, 1993). Svou roli má také v dopaminovém systému kde, narozdíl od  $\mu$  agonistů, kteří zvyšují hladinu dopaminu,  $\kappa$  agonisté tuto hladinu snižují. Všeobecně mají  $\kappa$  agonisté oproti  $\mu$  agonistům opačný účinek (dysforie díky  $\kappa$  agonistům naproti euforii díky  $\mu$  agonistům) (Abraham, 2003).

#### MOR – $\mu$ opioidní receptor

Tento receptor byl naklonován roku 1993 (Thompson et al., 1993). Je rozšířen v centrálním nervovém systému v oblastech předního mozku, středního mozku a zadního mozku. Největší koncentrace těchto receptorů jsou v mozkové kůře, caudate-putamen, nucleus accumbens, thalamu, hippocampu, amygdale a nucleus tractus solitarius. Distribuce MOR koresponduje s jejich rolí v regulaci bolesti a sensomotorice. Jsou známi svou velkou afinitou k morfinu, naloxonu a enkefalinu. S velkou afinitou se k nim také váže  $\mu$  selektivní ligand DAMGO (Kosterlitz a Paterson, 1981), ale nevážou  $\delta$  selektivní ligand (D-Pen<sup>2</sup>, D-Pen<sup>5</sup>) enkefalin (DPDPE) (Mosberg et al., 1983) nebo  $\kappa$  selektivní ligandy (U50, 488H) (von Voigtlander et al., 1983), díky čemuž mohl být  $\mu$  opioidní receptor potvrzen jako samostatný typ. MOR má svou úlohu v uvolňování prolactinu a indukci katalepsie (Pasternak a Wood, 1986, 1987). Studuje se jeho vliv na snížení přeměny dopaminu a zpomalení

motility gastrointestinálního traktu (Thompson et al., 1993). MOR se dále dělí do dvou podtříd  $\mu_1$  a  $\mu_2$  (Pasternak a Wood, 1983).  $\mu_1$  má vyšší afinitu k morfinu, podílí se na supraspinální analgesii a je selektivně blokován naloxonem (Anupama et al., 2009).  $\mu_2$  – má nižší afinitu k morfinu, podílí se na supraspinální analgesii, respirační depresi a konstipacním účinku (Anupama et al., 2009).

#### NOR – N/OFQ opioidní receptor

Tento receptor sdílí vysokou strukturní homologii s klasickými opioidními receptory, ale má velmi nízkou, až téměř žádnou afinitu k běžným opioidním ligandům. Strukturně je s klasickými opioidními receptory shodný hlavně v transmembránových regionech a cytoplazmatických doménách. Naopak nejméně shodné jsou úseky extracelulárních domén, které jsou zásadní pro selekci a vazbu ligandů (Meng et al., 1998). Funkci má obdobnou jako klasické opioidní receptory, tzn. snižování nervové vzrušivosti a inhibici uvolňování neurotransmiterů. Laboratorní testy prokázaly jeho pronocicepční a antianalgetický účinek (Pan, 2000).

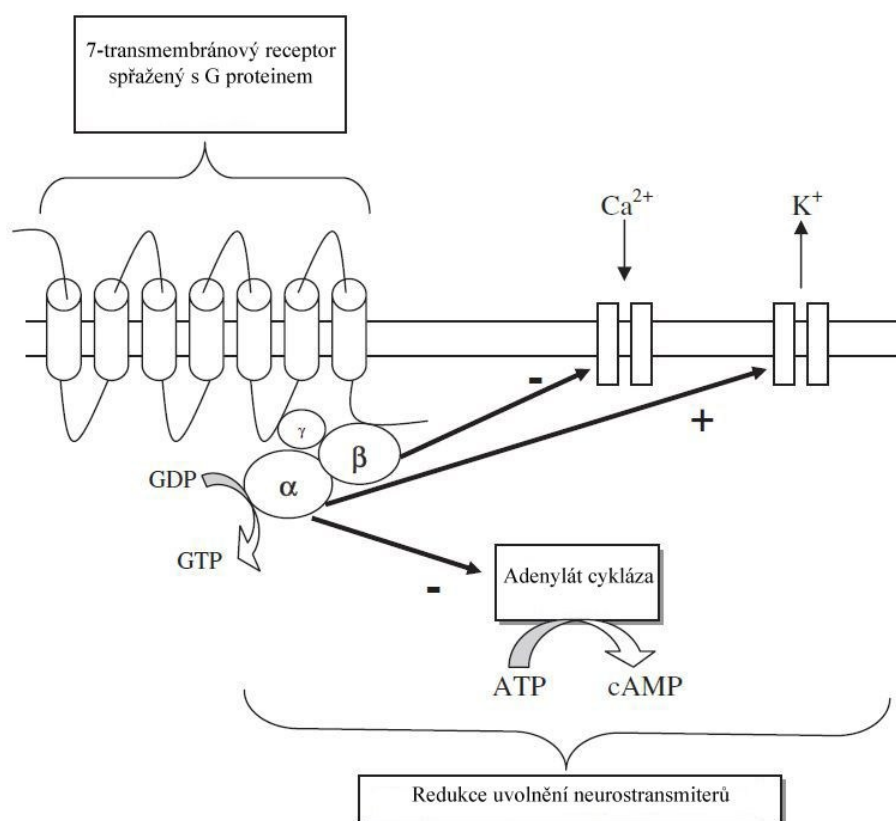
Tabulka 1. Klasifikace, funkce a výskyt opioidních receptorů (upraveno podle Mansour et al. 1988)

<b>Funkce</b>	<b>Typ receptoru</b>	<b>Anatomie</b>
Regulace chuti, příjem potravy	$\mu$ , $\delta$ , $\kappa$	Ventrální tegmentální oblast
Kardiovaskulární regulace	$\mu$ , $\delta$ , $\kappa$	Nucleus tractus solitarius
Rovnováha tekutin	$\kappa$ diuréza $\mu$ antidiuréza	Hypothalamus a střevo ( $\kappa$ )
Endokrinní odpovědi		Hypothalamus
<i>Stimulační efekt</i>		
Růstový hormon	$\delta$	
ACTH	$\mu$ , $\kappa$	
Prolactin	$\mu$ , $\kappa$	
<i>Inhibiční efekt</i>		
Luteinizační hormon	$\mu$ , $\delta$	
Vasopressin	$\kappa$	(také nucleus tractus solitarius)
Oxytocin	$\mu$ , $\kappa$	
Inhibice bolesti	$\mu$ , $\delta$	Supraspinální, spinální
	$\delta$	medulární retikulární formace
	$\kappa$	spinální
Respirace	$\mu$ , $\delta$ mohou způsobovat respirační depresi	Mozkový kmen
Lokomoce	$\mu$ zvyšuje aktivitu	A9, A10 DA systém
	$\kappa$ sedace	A10 DA systém
Termoregulace	$\mu$ může způsobit hypotermii	Hypothalamus
	$\delta$ může způsobit hypertermii	

#### 3.1.5. Mechanismus přenosu informace

K aktivaci receptoru a následnému spuštění kaskády dějů je nejprve potřebná vazba agonisty daného receptoru. Vazba agonisty k opioidnímu receptoru způsobí konformační změnu

opioidního receptoru vedoucí k aktivaci intracelulárního G proteinu. Alfa podjednotka G proteinu s navázaným GDP tvoří s beta a gamma podjednotkami intracelulární trimerický proteinový komplex. Opioidní receptor po navázání opioidu projde konformační změnou, která se přenesse na příslušný G protein třídy  $G_{i/o}$ , což vyvolá výměnu GDP za GTP na Alfa podjednotce. Tato výměna GDP za GTP aktivuje G-protein. Opioidní receptory se běžně vážou k alfa podjednotkám  $G_{i/o}$  proteinů, a jakmile proběhne výměna GDP za GTP, alfa podjednotka se odpojí od beta a gamma podjednotek a inhibuje aktivitu adenylátcyklázy (Obr. 3). Volný betagamma dimer má své specifické buněčné cíle a je schopen aktivovat nebo inhibovat signální kaskády či přímo ovlivňovat aktivitu ionových kanálů (Encyclopedia of neuroscience 2009, Elements of molecular neurobiology 2002). Aktivací opioidního receptoru dojde k uzavření napěťově citlivých vápníkových kanálů, ke stimulaci odtoku  $K^+$  iontů, což vede k membránové hyperpolarizaci. Kromě toho dochází ke snížení produkce cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) díky inhibici enzymové aktivity adenylátcyklázy, která je zodpovědná za přeměnu ATP v cAMP, fungujícího v buňce jako druhý posel. Celkově dojde k poklesu nervové vzrušivosti způsobující snížení přenosů nervových impulsů společně s inhibicí uvolňování neurotransmiterů.



Obr. 3. Schema přenosu informace od opioidních receptorů. Opioidní receptor (procházející 7krát membránou) je spřažen s G proteinem třídy  $G_{i/o}$ . Na obrázku je G protein popsán jako  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (McDonald a Lambert, 2005).

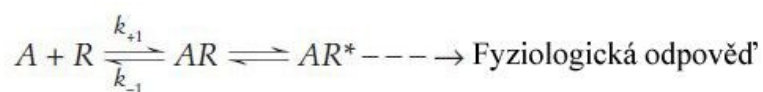
Práce poskytující důkazy, že opioidní receptory patří do velké rodiny receptorů spřažených s G proteiny byly zveřejněny v 70. letech 20. století. První studie prokázaly, že guaninové nukleotidy specificky snižují vazbu agonistů v mozkových membránách (Blume, 1978) a neuroblastomu X gliomu (NG108-15) hybridních buněk (Blume, 1979). Bylo zaznamenáno, že opioidní receptory existují ve 2 rozdílných stavech v závislosti na přítomnosti nebo absenci guaninových nukleotidů. Důkazy naloxon reverzibilní GTP-dependentní inhibice adenylcyklázy morfinem a opioidy stimulovaná GTPasová aktivita v NG108-15 buněčných membránách poskytly další fakta potvrzující spřažení G proteinů s opioidními receptory (Blume et al., 1979, Koski et al, 1981).

Opioidní regulace cyklického AMP byla nalezena u mnoha buněčných linií a stala se typickým znakem pro opioidní aktivitu. Prvně byla prokázána v buněčné linii neuroblastomu X gliomu při použití morfinu (Sharma et al., 1975). Všechny základní naklonované opioidní receptory inhibují aktivitu adenylcyklázy tento efektor (Johnson et al; 1994; Law et al., 1994, Xie et al., 1994). Dodnes je opioidní inhibice tohoto efektoru často studovaným tématem.

Všechny 3 základní typy opioidních receptorů se párují s rozmanitými Ca<sup>2+</sup> kanály. Tyto efekty pak byly studovány na různých buněčných liniích (North, 1991). Opioidní receptory také ovlivňují K<sup>+</sup> kanály. Studie na nižších obratlovcích dokázala, že opioidní receptory mohou aktivovat K<sup>+</sup> GIRK1 kanály (Darlison et al., 1997). Aktivace K<sup>+</sup> kanálů se v případě opioidních receptorů bere jako norma, ale najdou se i výjimky, např. opioidní inhibice K<sup>+</sup> kanálové aktivity v F-11 buněčné linii, apod. (Cruciani et al., 1993, Fan et al., 1991)

### 3.2. Opioidní agonisté

Agonista je molekula (droga, neurotransmitter, hormon), která se váže na specifický receptor, aktivuje ho a tím vyvolá fyziologickou odpověď (Obr. 4).



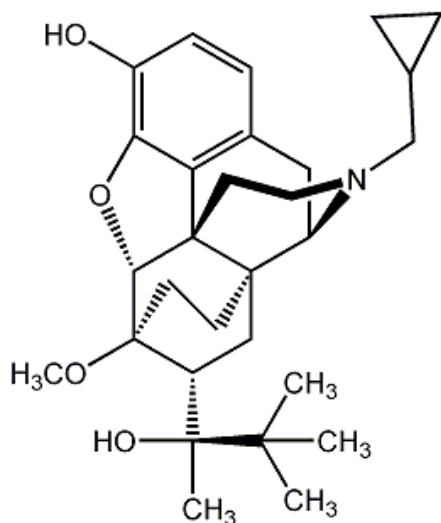
Obr. 4. Aktivace receptoru. A zde představuje agonistu, R je volný receptor, AR je komplex agonista-receptor, a AR\* je receptor v aktivovaném stavu navázaný na agonistu.  $k_{+1}$  a  $k_{-1}$  představují rychlost asociace a diasociace (Cellular and Molecular Neurobiology, 2001).

Ne všichni agonisté spoutějí maximální odpověď na receptoru. Podle účinku se dělí na úplné agonisty a částečné agonisty. V případě, že látka působí na jednom receptoru jako agonista či částečný agonista a na jiném receptoru jako antagonist, řadíme tuto látku mezi tzv. smíšené agonisty-antagonisty (Pain in infants, children, and adolescents, 2002). Receptory dostávají své často názvy podle svých úplných agonistů.

V případě vystavení receptoru delšímu působení agonistů dojde u něj ke snížení odpovědi, čemuž se říká desenzitizace receptoru. Desenzitizace může být homologní nebo heterologní. V obou případech dochází k desenzitizaci díky fosforylaci serinových a threoninových zbytků na C-konci receptoru. Při homologní desenzitizaci dochází k fosforylaci díky enzymu protein kináza A (PKA), která je aktivována receptorovou vlastní aktivitou. Homologní desenzitizace může být také zajištěna GRK- $\beta$ -arrestinovým systémem. GRK jsou proteinkinázy regulující aktivitu GPCR tím, že fosforylují receptory v aktivovaném stavu (receptory s navázaným agonistou). Tato fosforylace podporuje navázání arrestinové molekuly na receptor, což zabraňuje dalším možným interakcím mezi receptorem a G proteinem (Pierce et al., 2002). V heterologní desenzitizaci dochází k fosforylaci opět díky aktivaci PKA, která je ovšem způsobena aktivitou jiného membránového receptoru (Elements of Molecular Neurobiology 2002). Desenzitizace receptoru může být zajištěna buď PKA či PKC a nebo GRK. Většina běžných opioidů jsou agonisté. (Tab. 2) Rozdíly v aktivitě a účinnosti souvisí s relativní stimulací různých opioidních receptorů ( $\mu$ ,  $\kappa$ , atd. ) stejně jako s genetickými rozdíly v citlivosti těchto receptorů (Trescot et al., 2008).

### 3.3. Smíšený agonisté-antagonisté

Buprenorfin (Obr. 5): též známý pod obchodním jménem Subutex či Temgesic



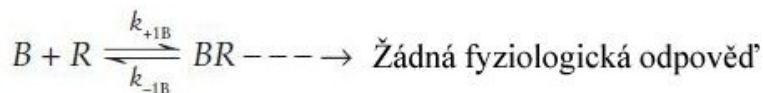
Obr. 5. Strukturální vzorec buprenorfinu ( $C_{29}H_{41}NO_4$ )

Buprenorfin se řadí mezi částečné agonisty. Má vysokou afinitu, ale nízkou účinnost na  $\mu$  receptorech. Na  $\kappa$  receptorech naopak působí jako antagonist. Díky těmto vlastnostem se používá při léčbě drogově závislých. Bývá však rychle odbourán v játrech (Medical Pharmacology at a Glance).

### 3.4. Opioidní antagonisté

#### 3.4.1. Charakterizace

Antagonista je molekula která zabraňuje účinku agonistů na dané receptory.

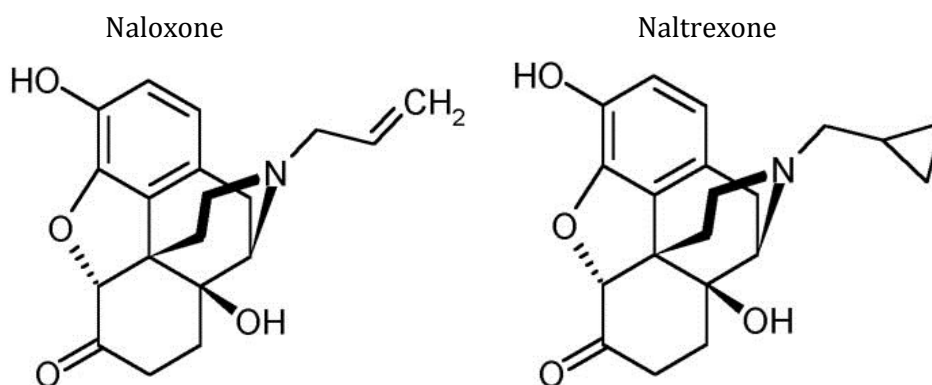


Obr. 6. Blokování funkce receptoru antagonisty. B zde představuje antagonistu, R je volný receptor, BR je komplex antagonisty-receptoru.

Účinek reverzibilních kompetitivních antagonistů může být zrušen, když se zvýší koncentrace agonistů, jelikož agonista a reverzibilní kompetitivní antagonisty soupeří o stejné vazebné místo na receptoru, na které se může vázat v jednu chvíli právě jedna molekula a to A nebo B (Obr. 6). Ireverzibilní kompetitivní antagonisty jsou takové receptorové antagonisty, které se z vazebného místa na receptoru uvolňují pomalu nebo vůbec. Jeho efekt tedy nelze zrušit, ani když se zvýší koncentrace agonistů. Čistí antagonisté blokují efekt opioidů na všech opioidních receptorech (Cellular and Molecular Neurobiology, 2001). Pro blokování  $\mu$  receptoru pomocí naloxonu je však potřeba mnohanásobně větší dávky oproti množství potřebnému k blokaci  $\kappa$  receptoru (Modern Pharmacology With Clinical Applications, 2003).

#### 3.4.2. Struktura

Naloxon a naltrexon jsou čisté opioidní antagonisty, kteří vzniknou pomocí menších změn ve struktuře molekul morfinu (Obr. 7). Přeměna substituentu na piperidin nitrogenu z methyl skupiny na delší postranní řetězec změnil molekulu z agonisty na antagonistu (Abraham, 2003).



Obr. 7. Strukturální vzorec naloxonu a naltrexonu



### 3.4.3. Často používaní antagonisté

**Naloxon:** též známý pod obchodním jménem Narcan

Chemický vzorec:  $C_{19}H_{21}NO_4$

Chemický název: N-allyldihydrohydroxynormorfinon

Používá se často na zvrácení předávkování opioidy díky jeho rychlému účinku. Neodkáže ale blokovat všechny vedlejší účinky opioidů, které jsou přenášeny na  $\sigma$  receptorech, jako jsou například halucinace. Poločas rozpadu naloxonu v plazmě je 1 hodina. Je rychle metabolizován v játrech. Jeho další použití je například ke zlepšení cirkulace u pacientů v šoku, účinek spojený s blokadou endogenních opioidů (Modern Pharmacology With Clinical Applications, 2002). Naloxon blokováním receptorů pro endogenní opioidy ovlivňuje i příjem potravy. Například preferování sladkých roztoků oproti běžné vodě je zrušeno systematickým podáváním naloxonu potkanům (Le Magnen et al., 1980). Všeobecně snižuje chuť na sladká vysokokalorická jídla jako je například čokoláda, sušenky apod. (Drewnowski et al., 1992). Blokování intraartikulárních opioidních receptorů pomocí lokálního podání naloxonu způsobuje zvýšení postoperačních bolestí (Stein et al., 1993).

**Naltrexon:** též známý pod obchodním jménem Trexan

Chemický vzorec:  $C_{20}H_{23}NO_4$

Chemický název: naltrexon hydrochlorid

Je trojnásobně až pětinasobně silnější než naloxon. Doba jeho účinku se pohybuje mezi 24 a 72 hodinami dle dávky. Orální užití se užívá v případech léčby drogově závislých, kdy snižuje potřebu další dávky drogy. Vysoké dávky opioidů, ale mohou překonat naltrexonové blokování opioidních receptorů a může dojít k záchvatům, respirační depresi a smrti. Naltrexone snižuje potřebu příjmu alkoholu u alkoholiků (Modern Pharmacology With Clinical Applications, 2002). Naltrexon též snižuje "požitek" při příjmu sladkých látek u lidí (Fantino et al., 1986).

Podle specifity interakce s receptory mohou být ligandy rozděleny na selektivní a neselektivní. V tab. 2 je pro ilustraci uveden přehled ligandů MOR.

Tabulka 2. Systém agonistů a antagonistů pro  $\mu$  receptor (Anupama et al., 2009)

receptor	Endogenní ligand	Selektivní ligand		Neselektivní ligand	
		Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista
$\mu$	Endorfiny	DAMGO Morfin	CTOP	Levorfanol	Nalaxone
	Endomorfiny	Metadone Fentanyl		Etorfin	Naltrexone
		Dermarfin			

	Dynorfiny A	Spiradoline U50, 488	Nor-BNI	Levorfanol Etorfin EKC	Nalaxone Naltrexone
	Enkefaliny	DPDPE Deltorfin DSLET	Naltrindol NTB BNTX	Levorfanol Etorfin	Nalaxone Naltrexone

BNTX-7 benzylidenenaltroxon; EKC-ethylketocyclazosin; NTB-benzofuran analog Naltrindolu; nor-BNI-nor-binaltorphimine; DAMGO-[D-Ala 2, MePhe 4, Gly(ol) 5]enkefalin ; DPDPE-[D-Pen 2, D-Pen 5]enkefalin; DSLET 0 [D-Ser 2, Leu 5]enkefalin-Thr 6; CTOP-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp Orn-Thr-Pen-Thr-NH<sub>2</sub>

## 4. Endogenní opioidy

### 4.1. Charakterizace

Endogenní opioidy jsou peptidy, které jsou přirozeně se vyskytujícími ligandy pro opioidní receptory. Používaný název pro celou skupinu těchto látek je také endorfiny (endogenní + morfin), ačkoliv se tak označuje také samostatná podskupina endogenních opioidů  $\beta$ -endorfiny (Shiff, 2002).

Klasické opioidní peptidy se dělí do 4 skupin.

- endorfiny
- enkefaliny
- dynorfiny
- endomorfiny

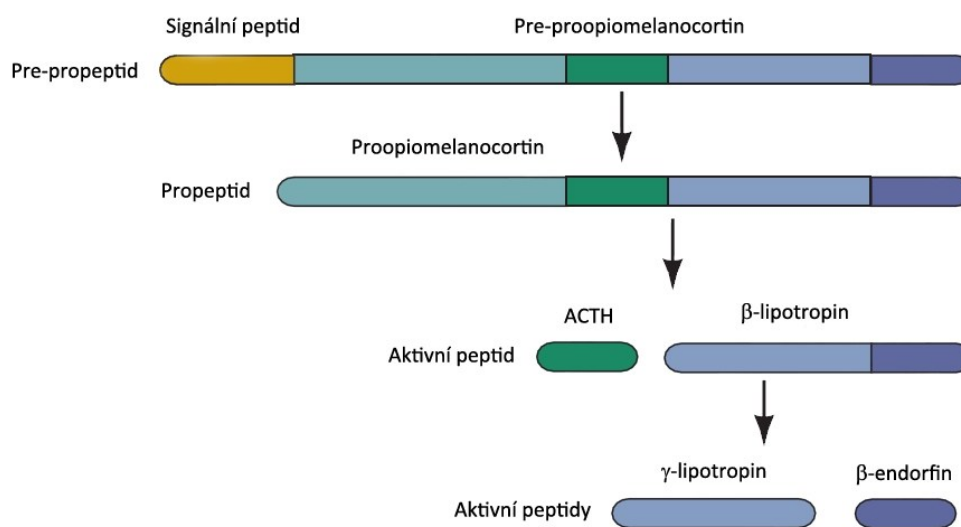
Každá z těchto skupin vzniká z typického prekurzorového proteinu a má specifickou tkáňovou distribuci. Prekurzory se nazývají pre-proopiomelanokortin (POMC), preproenkefalin a preprodynorfin (Anupama et al., 2009).

**Proopiomelanokortin** (POMC) získal svůj název díky tomu, že z něj vzniká  $\beta$ -endorfin, melanocyty-stimulující hormon (MSH), adrenokortikotropní hormon (ACTH) a corticotropin-like intermediate lobe peptide (CLIP).

**Proenkefalin** dává vzniknout několika kopiím met-enkefalinu, leu-enkefalinu a několika prodlouženým enkefalinům obsahujícím ME-Arg-Gly-Leu, ME-Arg-Phe, a dále vzniká peptid, který je rozložen na skupinu velkých enkefalinů, které se považují za nejsilnější analgetikum vznikající z proenkefalinu.

**Prodynorfin** dává vzniknout dynorfinu, který obsahuje LE sekvence a neoendorfinu (Principles of Neural Science, 2000).

Syntéza těchto peptidů probíhá v neuronech. V neuronech vznikají polypeptidy, které jsou mnohem větší než finální peptid, přičemž tyto polypeptidy se nazývají pre-propeptidy (nebo též pre-proproteins) a vznikají sekvencí několika intracelulárních reakcí na různých organelách (Obr. 8). Pre-propeptidy jsou syntetizovány na hrubém endoplazmatickém retikulu, kde je jim odejmuta signální sekvence aminokyselin, signalizující to, že daný peptid má být sekretován. Zbývající polypeptid zvaný propeptid (proprotein) je pak přenesen do Golgiho aparátu a “naložen” na vesikuly v *trans*-Golgiho síti. Poslední fáze syntézy zahrnují proteolytické stěpení, úpravy konců peptidů, glykosylaci, fosforylaci, a formování disulfidických můstků. Propeptidické prekurzory jsou větší než jejich peptidický produkt a může z nich vznikat více druhů neuropeptidů (Neuroscience, 2004).



Obr. 8. Vznik endogenních opioidů z prekurzorového proteinu (Neuroscience, 2004).

Tabulka 3. Endogenní opioidy a jejich charakteristické aminokyselinové sekvence (Abraham, 2003)

Proenkefalinové peptidy	
Leu-enkephalin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu
Met-enkephalin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met
Met-enkephalin-Arg <sup>6</sup> -Phe <sup>7</sup> -Leu <sup>8</sup>	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Arg-Phe
Met-enkephalin-Arg <sup>6</sup> -Phe <sup>7</sup> -Leu <sup>8</sup>	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Arg-Gly-Leu
Prodynorfinové peptidy	

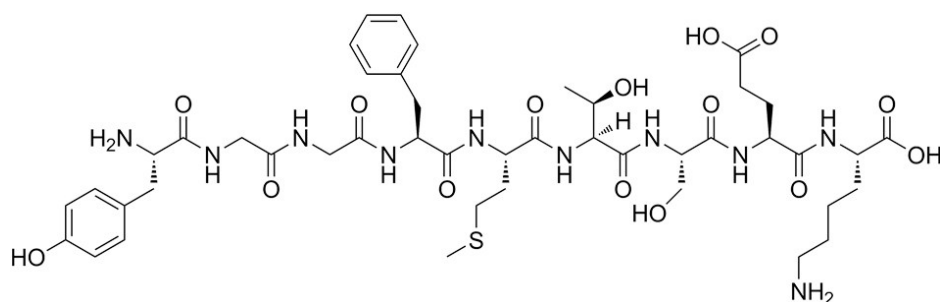
Dynorphin A	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln
Dynorphin B	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Gln-Phe-Lys-Val-Val-Th
$\alpha$ -Neoendorphin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Arg-Pro-Lys
$\beta$ -Neoendorphin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Lys-Tyr-Arg-Pro
Proopiomelanocortinové peptidy	
$\beta$ -Endorphin	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu
Endomorfiny	
Endomorfin-1	Tyr-Pro-Trp-PheNH <sub>2</sub>
Endomorfin-2	Tyr-Pro-Trp-PheNH <sub>2</sub>
orphanin FQ/nociceptin a příbuzné proteiny	
Orphanin FW Nociceptin	Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln
Orphanin FQ 2	Phe-Ser-Glu-Phe-Met-Arg-Gln-Tyr-Leu-Val-Leu-Ser-Met-Gln-Ser-Ser-Gl
Nocistatin (člověk)	Pro-Glu-Pro-Gly-Met-Glu-Glu-Ala-Gly-Glu-Met-Glu-Gln-Lys-Gln-Leu-Gln

Přehled aminokyselinových sekvencí endogenních peptidů je uveden v Tab. 3. Terminální sekvence aminokyselin Tyr-Gly-Gly-Phe- (Met nebo Leu) je důležitá pro správnou funkci na opioidních receptorech a nazývá se opioidní motiv (Anupama et al., 2009). Odbourání peptidů probíhá za pomoci enzymů peptidáz stěpících daný peptid na aminokyselinové fragmenty. Peptidázy jsou umístěny na extracelulární straně plasmatické membrány.

#### 4.1.1. Endorfiny

Endorfiny jsou endogenní opioidní polypeptidické látky, jejichž chemická stavba je podobná opioidním drogám (Obr. 9). V lidském těle vznikají 4 typy endorfinů. Jsou značeny alfa, beta, gamma a sigma (Daleyeun et al., 1993).  $\beta$ -endorfin vzniká z polypeptidického prekurzoru POMC. Je uvolňován do krevního oběhu při odpovědi na stres (Principles of Neural Science, 2000). Endorfiny jsou produkovány hypofýzou a hypothalamem u obratlovců během namáhavého cvičení (Partin, 1983), vzrušení a bolesti. Mohou hrát také roli v mobilizaci imunitního systému (Encyclopedia of Neuroscience, 2009). Mají vysokou afinitu především pro  $\mu$  a  $\delta$  opioidní receptory (Abraham, 2003). V experimentech na domácích koťatech byl prokázán jejich vliv na tvorbu emočních vazeb vznikajících prostřednictvím zvukového imprintingu, což s sebou neslo návykový proces zajištěný uvolněním

endorfinů a pozměněným uvolňováním dopaminu a serotoninu (Baldauf et al., 2005).  $\beta$ -endorfiny mohou být také produkovány lymfocyty v oblasti zánětu, kde vyvolávají analgesii přímo na koncích smyslových nervů (Encyclopedia of Neuroscience, 2009, Brack et al. 2004). Ovlivňují i příjem potravy. Hladina endorfinů v krvi se prokazatelně zvýší po zkonsumování sladkých látek a sníží následný příjem chininu u žíznivých potkanů. Naopak hladina  $\beta$ -endorfinů v mozkomíšním moku se zvýší po příjmu vody u žíznivých potkanů (Yamamoto et al., 2000). Rozdíl v hladinách  $\beta$ -endorfinů v mozkomíšním moku a krvi naznačuje, že půjde o dva opioidní systémy samostatně fungující během příjmu tekutin.

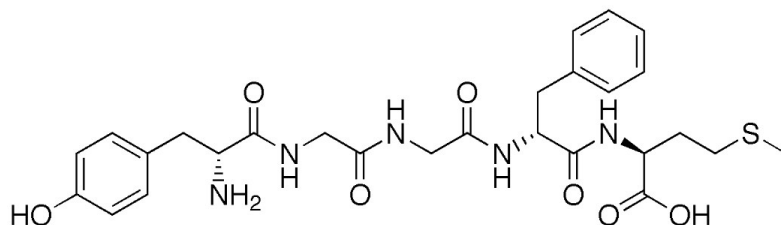


Obr. 9. Strukturní vzorec endorfinu

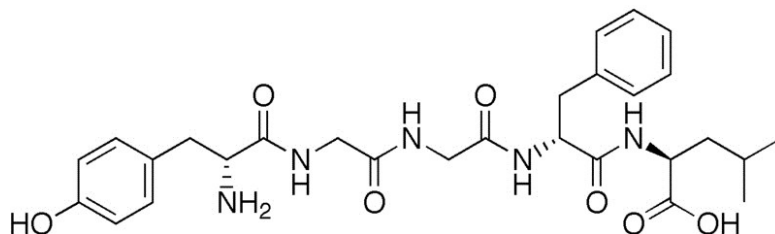
#### 4.1.2. Enkefaliny

Byly to první objevené opioidní peptidy. Dělí se na 2 skupiny: leucin enkefaliny a methionin enkefaliny. Obě skupiny vznikají ze stejného prekurzoru proenkefalinu, který obsahuje několik sekvencí pro met-enkefalin a jednu pro leu-enkefalin (Obr. 10 a 11). Nebyly zjištěny žádné rozdíly v jejich distribuci, jelikož sdílejí stejný prekurzor (Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2008). Proenkefaliny jsou časté v místech CNS, které souvisejí s vnímáním bolesti, chováním, motorickou kontrolou a neuroendokrinními funkcemi. Stejně jako další endogenní opioidy mohou být enkefaliny uvolňovány ve stavech vzrušení, fyzické námahy, sexuální aktivity a strachu (Encyclopedia of Neuroscience, 2009). Společně s  $\beta$ -endorfiny jsou látkami se silným antinocicepčním účinkem vázajícími se na  $\mu$  a  $\delta$  opioidní receptory (Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2008). Knockout myši postrádající gen pro enkefaliny mají v určitých místech zvýšenou koncentraci  $\mu$  a  $\delta$  opioidních receptorů, což naznačuje, že se enkefaliny vážou právě na tyto receptory (Brady et al., 1999). Neurony obsahující enkefaliny jsou hojné především v periaqueduktální šedé hmotě (PAG), do které přicházejí signály různých mozkových oblastí včetně hypothalamu, mozkové kůry a thalamu (Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2008). Enkefaliny byly imunoreaktivně prokázány i v axonech buněk laminy I a II (Hokfelt, 1977) a později v laminách I-III (Del Fiacco et al., 1980, Hunt et al., 1981, Miller a Seybold, 1989). Peptidy derivované z proenkefalinu byly objeveny i v lidských a hlodavčích imunitních buňkách. Proenkefalin mRNA byla nalezena v T a B buňkách, makrofazích a žírných

buňkách, a byly zde také zjištěny enzymy nutné pro postranlační úpravy proenkefalinu (Machelska et al., 2002, Stein et al., 1993). Analgetický efekt enkefalinu byl potvrzen testem na enkefalin deficientních myších, u kterých došlo ke snížení supraspinální analgesie. Proenkefalin knockout myši také projevují zvýšenou agresivitu k vetřelcům, úzkostlivé chování v bludišti a ovlivnění supraspinální procesů avšak ne spinálních (Konig et al., 1996).



Obr. 10. Strukturální vzorec Met-enkefalinu

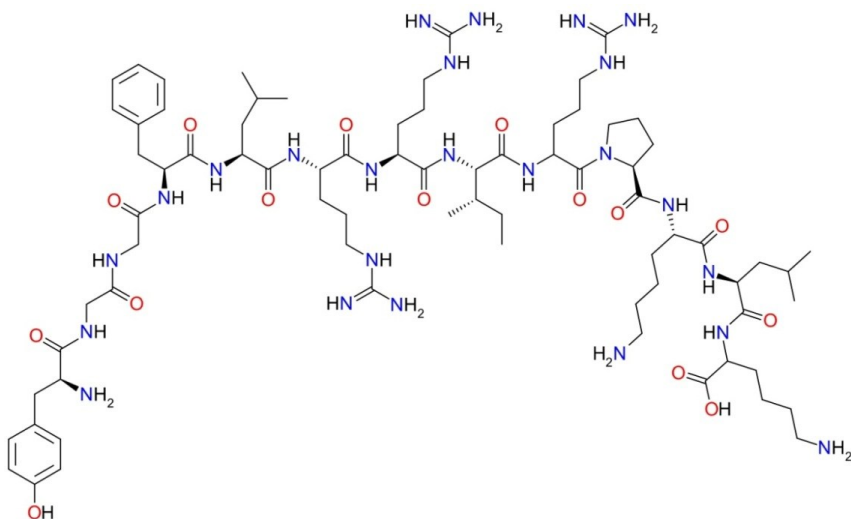


Obr. 11. Strukturální vzorec Leu-enkefalinu

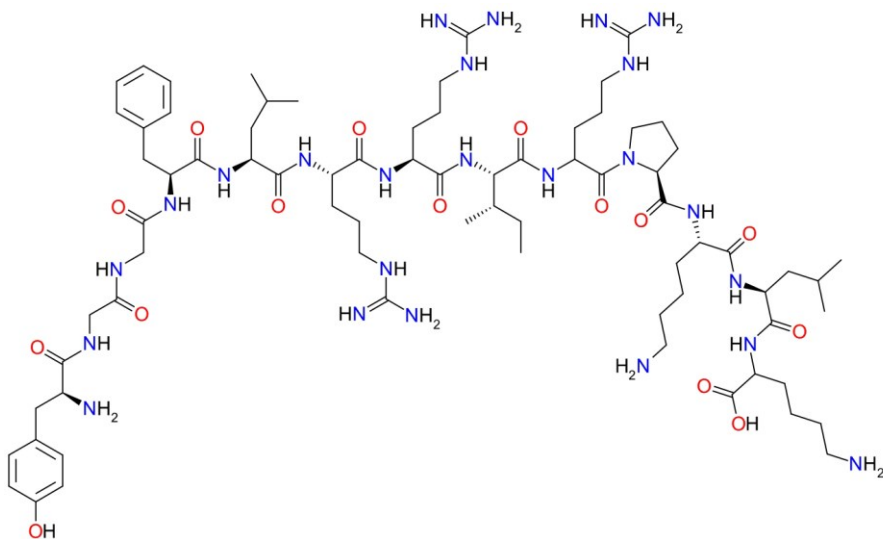
#### 4.1.3. Dynorfiny

Dynorfiny vznikají z prekursorového proteinu prodynorfinu, který je stěpen proprotein konvertázou 2 (Day et al., 1998). Dynorfiny jsou dvou typů a to dynorfiny A a dynorfiny B (Obr. 12 a 13). Dynorfiny jsou silně selektivními agonisty  $\mu$  receptoru, ale vážou se také na  $\kappa$  receptor (Trescot et al., 2008). Společně s enkefaliny a endorfiny se nacházejí v periaqueduktální šedé hmotě (PAG). Také byly lokalizovány v prodloužené míše a oblastech míchy, které se podílejí na přenosu signálů pro bolest (Neuroscience, 2004). Další místa produkce dynorfinů jsou pak hypothalamus, hipokampus a střední mozek (Anupama et al, 2009). Dynorfiny se nacházejí také v tělech a axonech neuronů v lamině I, II a V u potakana i kočky (Cruz a Basbaum, 1985, Cho a Basbaum, 1989, Ruda et al., 1988). Dynorfin B také přímo inhibuje  $\alpha 9/\alpha 10$  nikotinový acetylcholinový receptor mechanismem, ve kterém nejsou zapojeny opioidní receptory (Lioudyno et al., 2002). Syntéza dynorfinu v zadním rohu míšním je ovlivněna po úrazu a poranění míchy, přičemž dochází k zvýšení koncentrace dynorphin RNA (Tachibana et al., 1998). Dále byl potvrzen vliv dynorfinu na hyperalgesii, kdy si prodynorfin knockoutovaná myš, které byla podávána dynorfin A antiséra nevyvinula mechanickou a termální

hyperalgesii po SNL (spinal nerve ligation) (Gardell et al., 2004). Zvýšená koncentrace míšního dynorfinu po SNL je shodná s nástupem mechanické allodynie a termální hyperalgesie. V malém množství se nacházejí také v žírných buňkách, lymfocytech a makrofazích (Stein et al., 1993, Stein et al., 1996). Dynorfin funguje také jako inhibitor v případě otvírání iontových kanálů řízených NMDA receptorem (Chen a Huang, 1998).



Obr. 12. Strukturální vzorec dynorfinu A

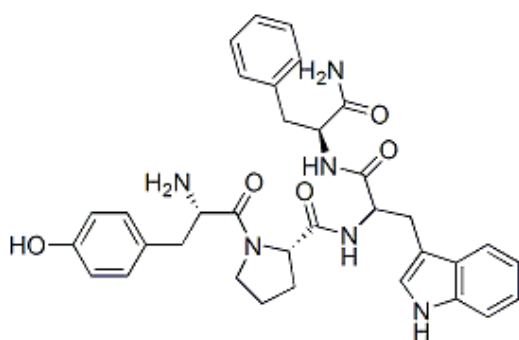


Obr. 13 Strukturální vzorec dynorfinu B

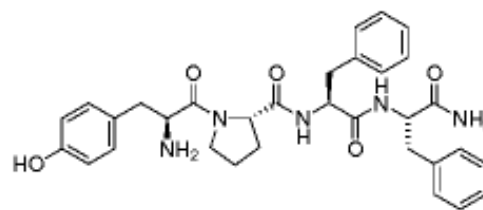
#### 4.1.4. Endomorfiny

Jedná se o skupinu tetrapeptidů, jejichž prekurzor dosud není znám. Neobsahují běžně se vyskytující opioidní motiv. Váží se vysoce selektivně na  $\mu$  opioidní receptory. Jejich odlišnost od

ostatních opioidních peptidů naznačuje existenci dalších genů pro opioidní peptidy, které však ještě nebyly objeveny. Do skupiny endomorfinů patří endomorfin-1 a endomorfin-2 (Obr. 14 a 15) (Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2008). Endomorfiny byly nalezeny nerovnoměrně rozdělené v mozkové tkáni. Jsou uloženy v neuronech a koncích axonů s heterogenní distribucí. Jsou uvolňovány ze synaptosómů při depolarizaci. (Horvath, 2000). Známa je především jejich antinocicepční funkce. Dále se endomorfiny podílí na vazodilataci stimulací uvolňování oxidu dusnatého z endothelia (Champion et al., 1997). Endomorfin-2 je omezen na primární smyslová vlákna, kde je kolokalizován se SP (substance P) (Martin-Shild et al., 1998, Sanderson Nydahl et al., 2004). Naproti tomu endomorfin-1 je vlastní CNS a objevuje se ve vláknech v lamině I a II (Martin-Shild et al., 1999). Endomorfin-2 je koncentrován v periaqueduktální šedé hmotě PAG a v zadním rohu míšním (Schreff et al., 1998). V PAG nastává u vazby endomorfinů na recetory výjimka, přičemž zde jsou endomorfiny pouze částečnými agonisty  $\mu$  receptorů (Narita et al., 1998). Endomorfiny ještě nejsou tak prozkoumané jako ostatní opioidy, takže se o jejich dalších rolích ve fyziologii stále uvažuje.



Obr. 14. Strukturní vzorec endomorfinu-1



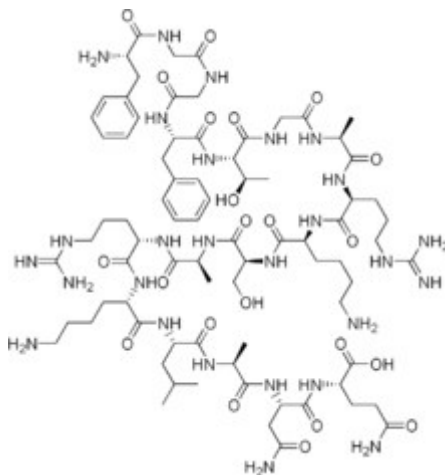
Obr. 15. Strukturní vzorec endomorfinu-2

#### 4.1.5. Nociceptin/orfanin FQ

Nově studovaným endogenním opioidním peptidem je nociceptin/orfanin FQ (N/OFQ) (Meunier et al., 1995). Sekvenčně je značně homologní k dynorphinu A (Obr. 16). Má délku 17 aminokyselin, stejné karboxylové terminální zbytky a lehce modifikovaný opioidní motiv (Phe-Gly-Gly-Phe místo Tyr-Gly-Gly-Phe) (Meunier et al., 1995). Reguluje některé biologické funkce na periferiích i v centrálním nervovém systému pomocí aktivace opioidního receptoru nazývaného N/OFQ peptidový receptor (NOR) (Arduin et al., 2007). Orfanin FQ/N se významně liší od běžných endogenních opioidů (enkefalinů, dynorfinů, endomorfinů) ve fyziologickém dopadu jeho účinku. Klasické opioidy způsobují analgesii, zatímco orfanin FQ/N působí opačně a spouští hyperalgesii a allodynii obrácením opioidy indukované analgesie (Danielson et al., 2001). N/OFQ prekurzor má unikátní tkáňovou distribuci, která naznačuje jeho důležitou roli především v hipokampu, mozkové kůře a míše (Neal et al., 1999). N/OFQ má široký rozsah účinků ovlivňujících chování, včetně drogové závislosti. Ovlivňuje odpovědi



na ethanol a morfin a snižuje příjem alkoholu u alkohol preferujících myší (Bertorelli, 2000). Je také známo, že N/OFQ ovlivňuje několik autonomických funkcí včetně močícího reflexu u myší. Vliv na kardiovaskulární systém byl také prokázán a může díky němu docházet k přechodným hypotenzím a bradykardií u myší (Bertorelli, 2000)



Obr. 16. Strukturální vzorec nociceptinu/orfaninu FQ

## 4.2. Fyziologické účinky

### 4.2.1. Stres

Stres je definován jako soubor událostí, které jsou složeny z podnětu (stresor), který urychlí reakce v mozku (stresové vnímání), což následně aktivuje fyziologický boj nebo bojové systémy v těle (stresová odpověď) (Encyclopedia of neuroscience 2009). Stres je také definován jako jakýkoliv vnější podnět, který ohrožuje homeostázu - běžnou rovnováhu tělesných funkcí (Brain Facts: a primer on the brain and nervous system, 2002).

Do množství fyziologických dějů souvisejících se stresem se zapojuje také opioidní systém s jeho typickými vlivy. Samotný fakt, že  $\beta$ -endorfin a stresový hormon ACTH mají společný prekurzor POMC, naznačuje spojitost mezi těmito různými systémy. Tento vzájemný vliv byl podroben zkoumání a výsledkem bylo objevení fenoménu stresem indukované analgesie (Akil et al., 1986). Stresem indukovaná analgesie je jev, kdy dochází ke snížení bolesti v odpovědi na stresovou událost, jako například nucené plavání v ledové vodě (Akil et al., 1986). Při použití opioidního antagonisty naloxonu došlo k blokování stimulací produkované analgesie stejně jako morfinem indukované analgesie, což potvrdilo roli opioidních systémů v tomto fenoménu (Principles of Neural Science, 2000).

Opioidní receptory, které přenáší stresem indukovanou analgesii (SIA) jsou závislé na typu použitého stresoru (Vaccharino, 2001). Nově studovanými vlivy na SIA jsou ekologické faktory, věk a pohlaví probantů, které jak se dnes ukazuje, skutečně ovlivňují tento fyziologický jev (Bodnar 2004).

Příkladem může být rozdíl ve vzniku věkově dependentní analgesie vyvolané intraorálním podáváním sacharózy krysám, kdy byly použity termální a mechanické stimuly. Analgesie pak byla nejvyšší během 10-13 postnatálních dnů, ale chyběla již po 17 postnatálním dnu (Anseloni et al., 2002).

V případě emočního stresu také dochází k zapojení opioidních systémů. Jeden z testů, které prokázaly toto tvrzení, je test využívající myši kterým chybí pre-proenkefalinový gen. U těchto myší docházelo k výraznému zvýšení v četnosti "zamrznutí" díky stimulům strachu a strachu spojeného s šokem, také ke snížení času stráveného procházením středem otevřeného prostoru a dále ke snížení pobytu na světlé části komory se světlem a tmou. Příjem potravy, sexuální chování nebylo ovlivněno, takže tyto jevy nemohly pokus prokazatelně ovlivnit (Ragnauth et al., 2001).

#### 4.2.2. Příjem potravy a tekutin

Již delší dobu je znám a také studován vliv opioidů a jejich antagonistů na příjem různých druhů potravy. Tyto studie se také zabývají možným léčením poruch příjmu potravy. Opioidní systém je zapojen v příjmu potravy širokého spektra druhů včetně améb, měkkýšů, savců a ptáků. Výjimky z tohoto pravidla samozřejmě existují a jsou to například mývalové (*Procyon lotor*), křeček zlatý (*Mesocricetus auratus*) a křeček čínský (*Cricetulus griseus*), kteří jsou insenzitivní k naloxonu při příjmu potravy (Olson et al., 1996).

Opioidní agonisté mohou kladně stimulovat příjem potravy, včetně  $\mu$  agonisty DAMGO, který zvýšil příjem potravy, ale neovlivnil příjem vody, při jeho injekčním vstříknutí do paraventriculárního nukleu hypothalamu. Když však byla předložena možnost výběru mezi laboratorním krmivem a 10% roztokem glukózy, zvýšilo DAMGO pouze příjem 10% roztoku glukózy. To naznačuje vliv endogenních opioidů na chutnost potravin a také „odměňovací“ charakteristiky potravin (Giraud et al., 1999). Všeobecně platí, že agonisté stimulují příjem potravy a antagonisté ho potlačují, ovšem i zde je mnoho výjimek. V některých případech nedošlo k žádnému ovlivnění. Příkladem může být vliv  $\beta$ -endorfinu na příjem potravy u zlatých rybiček, kdy při intracerebroventrikulárním vstříknutí  $\beta$ -endorfinu došlo během prvních dvou hodin k zvýšení příjmu potravy, ale během dalších 6 hodin nebyly zjištěny žádné vlivy na příjem potravy. Naproti tomu intraperitoneální vstříknutí 1  $\mu$ g  $\beta$ -endorfinu nezpůsobilo žádné změny v příjmu potravy (de Pedro et al., 1995).

Opioidy mají vliv také na systém příjmu tekutin. Jejich vliv je nyní studován hlavně ve světle možného využití léčby alkoholismu. Opioidní agonisté mají všeobecně smíšený efekt na příjem tekutin, protože nízké dávky v některých experimentech příjem zvýšily a vysoké naopak snížily. Například antagonistu DAMGO stimuloval příjem tekutin (Badianiet al., 1995), stejně jako morfin (Hodge et al., 1995) při nízkých dávkách. Morfin přitom při vysokých dávkách blokoval příjem a serotoninový antagonistu tropisetron snížil tento efekt, což dále naznačilo spojení mezi opioidním a serotoninergním systémem (Hodge et al., 1995). Propojenost ethanolu a jeho fyziologického vlivu

s opioidním systémem může být demostrována například na nedávno provedeném pokusu studujícím sociální facilitaci indukovanou ethanolem v adolescentních potkanech, která byla zablokována agonisty MOR (Varlinskaya a Spear, 2009). Za biologický znak alkoholismu by se dalo považovat snížení plasmatického  $\beta$ -endorfinu, které je zaznamatelné nejen v období příjmu alkoholu, ale také i po 10 letech abstinence (del Arbol et al., 1995) Toto pravidlo neplatí však vždy a nižší hladina  $\beta$ -endorfinů nemusí být způsobena jen alkoholismem. Dále se ukázalo, že hladina  $\beta$ -endorfinu je lepším prediktorem u žen než u mužů (Aguirre et al., 1995)

#### 4.2.3. Gastrointestinální a renální funkce

Vliv opioidního systému se projevuje i v modulaci gastrointestinálních funkcí. Velmi známý je konstipční účinek opioidních agonistů. Ten byl potvrzen testem za použití morfinu (Ferraz et al., 1995). Takto vznikající konstipace je vedlejším účinkem vlivu opioidů jako je například heroin a morfin, které způsobují primárně zpomalení tranzitu v tlustém střevě. To můžeme vysvětlit aktivací opioidních receptorů agonisty, která vede k presynaptické inhibici při uvolnění neurotransmiterů v střevním nervovém systému (Brierley et al., 1999). Další testy pak prokázaly, že zvýšená aktivita opioidních systémů zpomaluje gastrointestinální motilitu (Olson et al., 1996).

Celkově byl prokázán vliv morfinu a dalších opioidních agonistů jako inhibitorů gastrointestinálních funkcí, včetně transportu a gastrického vyprazdňování. Tyto efekty pak mohou být zpětně obráceny opioidními antagonisty (Vaccarino a Kastin, 2000). Opioidní systém může ve stresových situacích fungovat také jako částečná ochrana gastrického systému, u kterého běžně v takovýchto podmínkách dochází k tvorbě vředů. Tento efekt byl prokázán na příkladu potkanů, u kterých vznikaly vředy v důsledku chladově aktivovaného stresu. Při aplikaci DALA nebo inhibitoru enkefalinázy thiorfanu došlo k potlačení vzniku vředů a naproti tomu aplikace naloxonu blokovala tento ochranný efekt (Scoto et al., 1996).

Opioidní receptory jsou zapojené i v renálních vylučovacích funkcích. Je známo, že  $\mu$  agonisté mají antidiuretický efekt a  $\kappa$  agonisté podporují exkreci vody (Olson et al., 1997). Významnou roli zde hraje především OFQ/N. U potkanů intracerebroventrikulární injekce OFQ/N snížila močovou exkreci sodíku a aktivitu renálního sympatetického nervu, přičemž také zvýšila tok moči (Kapusta a Kenings, 1999).

#### 4.2.4. Paměť

Opioidy a jejich účinky mají také svůj význam v problematice paměti. Studuje se jejich vliv na široké spektrum druhů učení, jako je například klasické podmiňování či operantní podmiňování. Opioidy nebyly testovány pouze ohledně své schopnosti ovlivňovat paměť, ale byly také použity jako součásti plnění úkolů, kde plnily role stimulantů a zesilovačů (Olson et al., 1996).

Klasické podmiňování je v základu forma asociativního učení, při kterém nervový stimul získává hodnotu pomocí dočasného spojení s přirozeně nepodmíněným stimulem. Silně stimulována je při tomto procesu amygdala (The new cognitive neurosciences, 2000). Úloha opioidů v klasickém podmiňování byla studována hlavně z hlediska paradigmatu podmíněné preference místa (CPP) a podmíněné averze místa (CPA). CPP paradigma bylo využito k porovnání zesilujících schopností morfinu, spojením morfinu a určitého prostředí a naproti tomu spojením placebo a jiného prostředí. Posilující schopnost morfinu byla prokázána, jelikož zírata ve stavu bez drog si většinou vybírala stranu asociovanou s morfinem. CPA se pak projevovala při použití naloxonu jen ve zdrogovaném stavu (Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2008). Místem asociovaným se zesilovací schopností morfinu a ethanolu je především ventrální tegmentální oblast (VTA). Aktivací receptorů v VTA pomocí vstříknutí endogenního opioidu met-enkefalinu do VTA též dojde ke vzniku CPP (McBride et al., 1999). Systematické postréninkové podávání opioidů všeobecně zhoršuje paměť a naproti tomu antagonisté paměť zlepšují (The new cognitive neurosciences, 2000). Endogenní opioidy přenášejí také operantní reakce na další typy zesilovačů, včetně ethanolu, kokainu, glukózy, mléka, jídla a vody (Vaccarino a Kastin, 2000).

#### 4.2.5. Emoce

Endogenní opioidy jsou široce známé právě především díky své schopnosti ovlivňování nálad. Známa je hlavně spojitost zlepšení nálady po namáhavějším cvičení. Cvičení totiž stimuluje uvolnění endogenních opioidů a poskytuje tak psychologickou podporu během cvičení a zlepšuje sebevědomí (McBride et al., 1999). Při testu na profesionálních sportovcích bylo potvrzeno, že po běhu došlo k výraznému zvýšení koncentrace  $\beta$ -endorfinů v plazmě, což mělo za následek zlepšení nálady (Harte et al., 1995). Opioidy jako agonisté u lidí způsobují pocity tepla, ospalosti a dobré nálady a někdy též euforie. Změny nálad jsou zprostředkované skrze limbický systém (Ferrante, 1996). Podnětů k uvolnění endogenních opioidů může být mnoho od již zmíněného sportovního výkonu, přes příjem některých druhů potravy (Melchior et al., 1991) až po vystavení světlu. Léčby světlem, která staví právě na faktu, že kožní buňky produkují endogenní opioidy, když jsou vystaveny světlu, se využívá k léčení sezóních depresí, což je stav nastávající na podzim a v zimě, který se střídá se stavy bez deprese v létě a na jaře (Sher, 2001). Snížení hladiny  $\beta$ -endorfinů v plazmě způsobující úzkost a depresi, což bylo prokázáno na studiích pacientů s depresí, kdy měli depresivní pacienti mnohem nižší hladiny  $\beta$ -endorfinu oproti zdravým lidem. Přitom pacienti s endogenní depresí měli ještě nižší hladinu  $\beta$ -endorfinu než pacienti s neendogenní depresí (Djurovic et al., 1999). Endogenní opioidy a jejich role v impulzivním chování byla prostudována s použitím antagonisty naltrexonu, který zlepšil chování u kleptomaniaků a u gamblera.(Dannon et al., 1999). Impulzivní agresivní chování u krys bylo též zvráceno, tentokrát za použití antagonisty naloxonu (Soderpalm a Svensson, 1999).

Individuální rozdíly v systému endogenních opioidů mají dopad i na celkový psychologický profil jedince. Příklad tohoto dopadu je zpracován ve studii zabývající se koncentrací  $\mu$ -opioidních receptorů a jejím vztahu k impulzivnímu jednání u lidí. Studie prokázala, že zvýšené impulzivní jednání souviselo se zvýšenou regionální koncentrací  $\mu$  receptorů a s vyšší stresem indukovanou aktivací opioidního systému (Love et al., 2009).

#### 4.2.6. Sexuální aktivita, těhotenství

Role endogenních opioidů v sexuální aktivitě byla zvažována již dlouho vzhledem k jejich častému fungování v systému odměny. Opioidní systém je skutečně zapojen v řízení sexuální aktivity, což bylo prokázáno na samcích (Agmo a Berenfeld, 1990) i na samicích potkanů (Paredes a Martínez, 2001). Opioidy jsou během sexuální aktivity uvolňovány z preoptické oblasti (Coolen et al., 2004). Všeobecně jsou endogenní opioidy považovány spíše za inhibitory sexuální aktivity jak u samců tak u samic. (Argiolas, 1999). Tato představa vychází především ze studií využívajících drogy opioidní povahy, jako je morfin, heroin a methadon. Opioidní drogy také snižují socio-sexuální interakce, aniž by interferovaly s lokomocí. Stejně výsledky byly pozorovány i při podání opioidních peptidů, jako jsou  $\beta$ -endorfinové a met-enkefalinové analogy rezistentní k proteolytickému štěpení. Naproti tomu bylo zjištěno, že opioidní antagonisté povzbuzují sexuální aktivitu (Argiolas, 1999).

Endogenní opioidy mají však, co se týče sexuálního chování, dvojitý účinek - samotnou sexuální aktivitu potlačují (vlivem ve střední preoptické oblasti), ale podporují anticipační fázi sexuálního chování (zvyšují sexuální vzrušení a motivaci) účinkem ve ventrální tegmentální oblasti, což zvýší aktivitu mesolimbického dopaminergního systému (Argiolas, 1999).  $\beta$ -endorfin funguje také jako regulátor sezónní reprodukční aktivity u samců ještěrek (*Podarcis siculus siculus*), kdy jeho nejvyšší hodnoty byly naměřeny v intersticiálních buňkách u sexuálně klidných ještěrek v prosinci a naopak jejich hladina byla nejnižší v dubnu, kdy probíhala nejvyšší testikulární aktivita. Hodnoty  $\beta$ -endorfinu přitom celoročně inverzně korelovaly s testikulární aktivitou (Ciarcia et al., 1994).

Těhotenství také ovlivňuje hladinu endogenních opioidů. Během časného těhotenství byl u potkanů zaznamenán velký nárůst koncentrace dynorfinů v míše a u běžně rodících žen byla zaznamenána zvýšená koncentrace plazmatického  $\beta$ -endorfinu, která korelovala s adrenokortikotropním hormonem, nebyla-li podána anestezie (Olson et al., 1996). Vystavení stresu může oddálit porod stejně jako podání morfinu (Bodnar a Hadjimarkou, 2003).

#### 4.2.7. Respirace

Endogenní opioidy hrají důležitou roli i v regulaci dýchání. Jsou účinné už před narozením a díky své inhibiční funkci potlačují dýchání před narozením a i po narození (Encyclopedia of neuroscience 2009). Opioidy zde klasicky způsobují hyperpolarizaci membrán a potlačení aktivity

respiračních neuronů. Jak presynaptická tak postsynaptická inhibice způsobí vznik bradypnoe, což je stav abnormálně zpomaleného dýchání. Opioidy bývají často spojovány díky tomuto efektu se syndromem náhlého úmrtí kojenců a spánkovou apneou u dospělých (Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease 2009).

Opioidy ovlivňují nejen běžné dýchání, ale také dýchání ve stresových podmínkách včetně hypoxie a hypercapnie. Hypoxie je definována jako stav, ve kterém je snížen přísun kyslíku do tkáně pod úroveň potřebnou k uspokojení metabolických nároků (Mayfield et al., 1996). Hypercapnie znamená též jako respirační acidóza je stav, při kterém dochází k zvýšení arteriálního oxidu uhličitého ( $\text{PaCO}_2$ ) (Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease 2009). Opioidy mají v těchto extrémních podmínkách protektivní funkci, jak bylo dokázáno v testu, při kterém byly myši vystaveny lethální hypoxii a byl jim podán  $\delta$  agonista BW373U86. Aktivace  $\delta$  receptorů zde vedla k prodloužení času přežití (Bofetiado et al., 1996). Stejně fungovalo i podání [D-Pen2,D-Pen5]-enkefalinu (DPDE), který je též  $\delta$  agonistou (Mayfield a D'Alcey, 1994). Další důkaz, že v hypoxii hrají důležitou úlohu hlavně  $\delta$  receptory, podala práce zabývající se expresí opioidních receptorů ovlivněnou hypoxií. Hypoxie neovlivnila expresi  $\mu$  a  $\kappa$  receptorů, ale byla potlačena exprese  $\delta$  receptorů. To bylo nejspíše způsobeno receptorovou zpětnou regulací spuštěnou zvýšenou aktivitou endogenních opioidů na  $\delta$  receptorech (Mayfield et al., 1996). Hyperkapnie je také ovlivněna a čím vyšší je hladina oxidu uhličitého v krvi, tím více opioidy snižují respiraci (Liguori et al., 1996). To se dá též považovat za ochranný mechanismus spuštěný v extrémních podmínkách.

Endogenní opioidy pravděpodobně souvisí i s alergickým astmatem, protože hrají roli v pathofyziologických procesech, které k němu vedou. U pacientů se sezónními alergiemi totiž došlo k redukcí v hydrolýze Leu-enkefalinů v krevní plazmě oproti zdravým lidem (Fuso et al., 1999).

#### 4.2.8. Kardiovaskulární funkce

Kardiovaskulární funkce jsou další z mnoha oblastí, v jejichž fungování hrají svou roli endogenní opioidy. Všeobecně se dá generalizovat účinek agonistů jako inhibiční, protože potlačují tepovou frekvenci a snižují krevní tlak. Ovšem tyto efekty jsou specifické pro různé situace a nemusí tedy toto pravidlo platit vždy (Olson et al., 1996). Významnou roli hrají především  $\kappa$  agonisté s předním postavením dynorfinů. Dynorfin vstříknutý do hipokampu snížil nejen krevní tlak, ale také tepovou frekvenci (Olson et al., 1995). Potkani vystavení izolaci po 7 dnů si rozvinuli zvýšený krevní tlak, což, jak bylo prokázáno, je  $\kappa$  receptory a agonisty ovlivněný proces, protože po pravidelných injekcích  $\kappa$  agonistů se krevní tlak vrátil na normálních hodnot (Shen a Ingenito, 1999). Byly podány důkazy, že i  $\delta$  a  $\mu$  receptory hrají svou roli v regulaci srdeční frekvence. Mikroinjekce leu-enkefalinu do dorsálního komplexu vagu způsobila bradykardii, která byla zpětně zvrácena podáním naloxonu, který

zde fungoval jako  $\delta$  antagonist; jako  $\mu$  antagonist zde byl aplikován ICI 154,129 (Feldman et al., 1996).

OFQ/N má též vliv na srdeční činnost. Podobně jako  $\kappa$  agonisté nociceptin konzistentně snižoval krevní tlak a srdeční frekvenci. U myši došlo po injekci nociceptinu ke snížení srdeční frekvence i krevního tlaku a tento efekt byl blokován OFQ/N antagonistou (Mededdu et al., 1999).

Met-enkefalin je vysoce koncentrován v srdci a ovlivňuje i zde nervovou vzrušivost (Vaccarino a Kastin, 2000). Bradykardie vyvolaná stimulací nervu vagu oslabená podáním met-enkefalinu byla sice slabší než při podání met-enkefalin-Arg-Phe (MEAP), avšak oslabení bylo stále znatelné. Met-enkefaliny tedy mohou ovlivňovat vagovou kontrolu srdeční frekvence (Caffrey et al., 1995).

Endogenní opioidy jsou spojeny i s kardiovaskulárními poruchami, jako je například ischemie myokardu, při které byly naměřeny zvýšené hodnoty  $\beta$ -endofinu v krevní plazmě a met-enkefalinu v myokardu, a naopak se snížila koncentrace leu-enkefalinu (Maslov a Lishmanov, 1995).  $\delta$  agonisté DPDPE a DADL výrazně snížili velikost infarktu u prasat, což naznačuje, že endogenní opioidy mají i kardioprotektivní účinek (Sigg et al., 2002).

Antagonisté, jsou-li běžně podáni samostatně, nemají žádný vliv na bazální srdeční frekvenci ani na krevní tlak. Existuje ovšem několik studií, které zaznamenaly odlišné výsledky. Například v jedné studii došlo k lehkému zvýšení v srdeční frekvenci po podání naloxonu (Shweta et al., 1999). Též u drogově závislých dochází po detoxifikaci naltrexonem ke snížení srdeční frekvence a je zde možná hrozba bradykardie (Olson et al., 1996).

#### 4.2.9. Imunologická odpověď

Fyziologický vliv opioidů na imunologické odpovědi byl již také prokázán. Opioidní peptidy jsou zapojeny do autoimunoregulace. Význam opioidů a jejich vliv na imunitní systém se zjistil z přítomnosti  $\mu$  a  $\kappa$  receptorů na bílých krvinkách, jejichž aktivace způsobí ovlivnění buněčné aktivity, stejně jako přítomnost specifických enzymatických degradací a regulačních procesů (Stefano et al., 1996).

Opioidy mají pravděpodobně dvojí funkci. V některých případech potlačují imunitní odpověď a jinde ji mohou naopak posilovat. Někteří mají bifázickou aktivitu, přepínají se z jednoho stavu účinku do druhého použitím mechanismu zpětné vazby. Typ odpovědi může být způsoben množstvím různých faktorů, včetně druhu použitého peptidu a receptoru, stejně jako mírou imunitní reakce vzhledem k tomu, že opioidy jak zvyšují, tak i snižují proliferaci imunokompetentních buněk, chemotaxi, aktivitu NK buněk a sekreci cytokinu nebo protilátek (Olson et al., 1997). Morfin běžně potlačuje imunologickou odpověď přes  $\mu$  receptory. Snižuje totiž aktivitu nejen NK buněk, ale též T

buněk a tím produkci interleukinu-2, samotnou proliferaci T-lymfocytů, produkci TNF- $\alpha$  (faktor nádorové nekrózy) a fagocytózu slezinových makrofágů (Gomez-Flores a Weber, 1999).

Endogenní opioidy mohou stejně jako morfin aktivovat opioidní receptory a jejich vliv je tedy na imunitní odpověď nezanedbatelný. V popředí je hlavně vliv enkefalinů, především met-enkefalinu. Met-enkefalin má zřejmě protektivní účinek proti některým druhům rakoviny. V případě rakoviny tlustého střeva potlačil met-enkefalin růst nádorů v tkáňové kultuře a naopak protilátky proti met-enkefalinu růst nádoru zvýšily (Zagon et al., 1996). Stejně účinkovala tato látka i na ledvinové rakovinné buňky, kdy snížila jejich proliferaci. Leu-enkefalin a podobné peptidy účinkovaly podobně, ale neměli již tak silný účinek (Vaccarino a Kastin, 2000).  $\beta$ -endorfin běžně aktivuje imunitní odpověď a může například zvyšovat koncentrace sérového interleukinu-6 nebo stimulovat aktivitu NK buněk (Olson et al., 1997).

## 5. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout základní poznatky o fungování endogenních opioidů a jejich vlivu na fyziologické procesy. Endogenní opioidy, stejně jako další látky opioidní povahy jako je například morfin apod., se váží na opioidní receptory, které jsou rozmístěny jak v centrální nervové soustavě, perierní nervové soustavě tak i v dalších tkáních. Tyto receptory patří do skupiny transmembránových receptorů spřažených s G proteiny, a dělí se na 4 základní skupiny: MOR, KOR, DOR, NOR. Na ně se s různou afinitou váží opioidní agonisté i antagonisté, přičemž endogenní opioidy nejčastěji plní funkci agonistů. Aktivace těchto receptorů spustí kaskádu dějů vedoucí ke snížení nervové vzrušivosti. Samotné endogenní opioidy se dělí do několika skupin, pro které jsou charakteristické vazby na různé typy receptorů. Tyto skupiny jsou endorfiny, enkefaliny, dynorfiny, endomorfiny a nociceptin/orfaniny. Jsou to látky peptidické povahy, které vznikají stěpením ze svých prekurzorů. Jejich syntéza probíhá v neuronech a jejich funkce zahrnují širokou škálu účinků. Opioidní systém se například zapojuje do regulace stresových odpovědí a vytváří stresem indukovanou analgesii. Opioidní agonisté stimulují též příjem potravy, zpomalují gastrointestinální motilitu, ovlivňují náladu i kardiovaskulární funkce, též inhibují dýchání a jejich účinek je nezanedbatelný i v imunologických odpovědích a sexuální aktivitě. Jejich vliv samozřejmě silně závisí na typu učitého opioidu, přítomných receptorech, místě účinku a též často na pohlaví a věku jedince. Vzhledem k jejich rozmanitým vlivům má studium opioidních systémů velký význam a nové objevy na tomto poli velkou hodnotu. Využití takto směřovaného výzkumu je široké od možnosti aplikování poznatků v medicíně po psychologii či zoologii atd.



## 6. Použitá Literatura

**Agmo, A. and Berenfeld, R.** (1990). Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behav Neurosci* 104, 177–182

**Aguirre, J. C.; de1 Arbol, J. L.; Rico, J.; Raya, J.; Miranda, M. T.** Classification of alcoholics on the basis of plasma -endorphin concentration. *Alcohol* 12:531-534; 1995.

**Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, Watson S.** Endogenous opioids: overview and current issues. *Drug Alcohol Depend* 1998; 51: 127–40

**Akil, H., Watson, S.J., Young, E., et al.** Endogenous opioids: biology and function. *Annu. Rev. Neurosci.*, 1984, 7:223-255.

**Akil, H., Young, E., Walker, J.M., and Watson, S.J.** The many possible roles of opioids and related peptides in stress-induced analgesia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1986, 467:140-153.

**Alfred Mansour, Henry Khachaturian, Michael E. Lewis, Huda Akil and Stanley J. Watson,** Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends in Neurosciences*, Volume 11, Issue 7, 308-314, 1 January 1988

**Andrea M. Trescot, Sukdeb Datta, Marion Lee, Hans Hansen,** Opioid Pharmacology, Pain Physician 2008; Opioid Special Issue: 11: S133-S153

**Anseloni VC, Weng HR, Terayama R, Letizia D, Davis BJ, Ren K, et al.** Age-dependency of analgesia elicited by intraoral sucrose in acute and persistent pain models. *Pain* 2002;97(1/2):93–103.

**Anthony L. Vaccarino, Abba J. Kastin,** Endogenous opiates: 1999 Peptides Volume 21, Issue 12, December 2000, Pages 1975-2034

**Anthony L. Vaccarino, and Abba J. Kastin,** Endogenous opiates: 2000 , Peptides, Volume 22, Issue 12, December 2001, Pages 2257-2328

**Anupama Koneru, Sreemantula Satyanarayana and Shaik Rizwan.** Endogenous Opioids: Their Physiological Role and Receptors. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (3): 149-153, 2009

**Argiolas A.** Neuropeptides and sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23:1127– 42.

**Badiani, A.; Leone, P.; Noel, M. B.; Stewart, J.** Ventral tegmental area opioid mechanisms and modulation of ingestive behavior. *Brain Res.* 670:264-276; 1995.

**Baldauf K, Braun K, Gruß M** (2005) Opiate modulation of monoamines in the chick forebrain: possible role in emotional regulation? *J Neurobiol* 62:149-163

**Beland, B. and Fitzgerald, M.** 2001. Mu- and delta-opioid receptors are downregulated in the largest diameter primary sensory neurons during postnatal development in rats. *Pain* 90, 143–150.

**Bertorelli, R., Calo, G., Ongini, E., and Regoli, D.** Nociceptin/orphanin FQ and its receptor: A potential target for drug discovery. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2000, 21:233-234.

**Blume A.** Opiate binding to membrane preparations of neuroblastoma x glioma hybrid cells NG105-15: effect of ions and nucleotides. *Life Sciences* 1978; 22: 1843-1852

**Blume A, Lichtshtein L, Boone G.** Coupling of opiate receptors to adenylate cyclase: requirement for Na<sup>+</sup> and GTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1979; 76: 5626-5630

**Blume A.** Interaction of ligands with opiate receptors of brain membranes: regulation by ions and nucleotides. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1978; 75: 1713-1717

**Bofetiado, D. M.; Mayfield, K. P.; D'Alecy, L. G.** Alkaloid  $\delta$  agonist BW373U86 increases hypoxic tolerance. *Anesth. Analog.* 82:1237-1241; 1996.

**Brack, A., Labuz, D., Schiltz, A., Rittner, H. L., Machelska, H., Schafer, M., Reszka, R., and Stein, C.** 2004. Tissue monocytes/macrophages in inflammation: hyperalgesia versus opioid-mediated peripheral antinociception. *Anesthesiology* 101, 204-211.

**Brady, L. S., Herkenham, M., Rothman, R. B., Partilla, J. S., Konig, M., Zimmer, A. M., and Zimmer, A.** 1999. Region-specific up-regulation of opioid receptor binding in enkephalin knockout mice. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 68, 193-197.

*Brain Facts: A PRIMER ON THE BRAIN AND NERVOUS SYSTEM*, 2002 The Society for Neuroscience

**Briejer MR, Schuurkes JAJ, Sarna SK.** Idiopathic constipation: too few stools and too little knowledge. *TiPS* 1999;20:1-3.

*Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Nervous System Agents (Volume 6)*, (Donald J. Abraham Wiley-Interscience 2003)

**Caffrey, J. L.; Mateo, Z.; Napier, L. D.; Gaugl, J. F.; Barron, B. A.** Intrinsic cardiac enkephalins inhibit vagal bradycardia in the dog. *Am. J. Physiol.* 268:H848-H855; 1995.

*Cellular and Molecular Neurobiology*, Second Edition, (C. Hammond ACADEMIC PRESS 2001)

**Ciarcia, G.; Facchinetti, F.; Vallarino, M.; et al.** Opioid peptides and testicular activity in the lizard *Podarcis s. sicula* Raf. *J. Endocrinol.* 143:565-571; 1994.

**Coolen, L M., Fitzgerald, M.E., Yu, L. and Lehman, M.N.** (2004). Activation of  $\mu$  opioid receptors in the medial preoptic area following copulation in male rats. *Neuroscience* 124, 11-21

**Cruciani RA, Dvorkin B, Morris SA, Crain SM, Makman MH.** Direct coupling of opioid receptors to both stimulatory and inhibitory guanine nucleotide-binding proteins in F-11 neuroblastoma-sensory neuron hybrid cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1993; 90: 3019-3023.

**Cruz, L. and Basbaum, A. I.** Multiple opioid peptides and the modulation of pain: immunohistochemical analysis of dynorphin and enkephalin in the trigeminal nucleus caudalis and spinal cord of the cat. 1985. *J. Comp. Neurol.* 240, 331-348.

**Dado, R. J., Law, P. Y., Loh, H. H., and Elde, R.** 1993. Immunofluorescent identification of a delta ( $\delta$ )-opioid receptor on primary afferent nerve terminals. *Neuroreport* 5, 341-344.

**Dalayeun, J.F., J.M. Norès and S. Bergal**, risks associated with opioid therapy. 1993. Physiology of beta-endorphins. A close-up view and a review of the literature. Biomed Pharmacotherapeutics, 47(8): 311-20.

**Danielson, P.B., Hoversten, M.T., Fitzpatrick, M., et al.** Sturgeon orphanin, a molecular "fossil" that bridges the gap between the opioids and orphanin FQ/nociceptin. J. Biol. Chem., 2001, 276:22114-22119.

**Dannon PN, Iancu I, Grunhaus L.** Naltrexone treatment in kleptomaniac patients. Hum Psychopharmacol Clin Exp 1999;14:583-5.

**Darlison MG, Greten FR, Harvey RJ, Kreienkamp HJ, Stühmer T, Zwiers H, Lederis K, Richter D.** Opioid receptors from a lower vertebrate (*Catostomus commersoni*): sequence, pharmacology, coupling to a G-protein-gated inward-rectifying potassium channel (GIRK1), and evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 1997; 94 : 8214-8219.

**Day, R., C. Lazure, A. Basak, A. Boudreault, P. Limperis, W. Dong and I. Lindberg,** Prodynorphin processing by proprotein convertase 2. Cleavage at single basic residues and enhanced The processing in the presence of carboxypeptidase activity. 1998. J. Biol. Chem., 273(2): 829-36.

**de Pedro, N.; Delgado, M. J.; Alonso-Bedate, M.** Central administration of P-endorphin increases food intake in goldfish: Pretreatment with the opioid antagonist naloxone. Regul. Pept. 55:189- 195; 1995.

**del Arbol, J. L.; Aguirre, J. C.; Raya, J.; Rico, J.; Ruiz-Requena, M. E.; Miranda, M. T.** Plasma concentrations of P-endorphin, adrenocorticotrophic hormone, and cortisol in drinking and abstinent chronic alcoholics. Alcohol 12:525-529; 1995.

**Del Fiacco, M. and Cuello, A. C.** Substance P-and enkephalin-containing neurones in the rat trigeminal system. 1980 Neuroscience 5, 803-815.

**Dhawan BN, Cesselin F, Raghuram R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, Hamon M** (December 1996). "International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors". Pharmacol. Rev. 48 (4): 567-92.

**Djurovic D, Milic-Askrabic J, Majkic-Singh N.** Serum b-endorphin level in patients with depression on fluvoxamine. Il Farmaco 1999; 54:130 -3.

**Drewnowski, A., Krahn, D. D., Demitrack, M. A., Nairn, K., and Gosnell, B. A.** 1992. Taste responses and preferences for sweet high-fat foods: evidence for opioid involvement. Physiol. Behav. 51, 371-379.

*Elements of Molecular Neurobiology* (C. U. M. Smith John Wiley & Sons, Ltd. 2002)

*Elements of Molecular Neurobiology.* (C. U. M. Smith Copyright 2002 John Wiley & Sons, Ltd.)

*Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease*, (FLORIAN LANG Springer-Verlag GmbH Berlin Heidelberg 2009)

*Encyclopedia of Molecular Pharmacology* (2. edice), (STEFAN OFFERMANN AND WALTER ROSENTHAL, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 2008)

*Encyclopedia of Neuroscience* (MARC D. BINDER, NOBUTAKA HIROKAWA AND UWE WINDHORST. Springer-Verlag GmbH Berlin Heidelberg 2009)

**Evans, C.J., Keith, D.E., Jr., Morrison, H., Magendzo, K., and Edwards, R.H.** Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science*, 1992, 258:1952-1955.

**Fan Meng, Guo-Xi Xie, Robert C. Thompson, Alfres Mansour, Avram Goldstein, Stanley J. Watson, Huda Akil.** Cloning and pharmacological characterization of a rat  $\mu$  opioid receptor (guanine nucleotide-binding protein-coupled receptor/dynorphin/cAMP/in situ hybridization), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 90, pp. 9954-9958, November 1993

**Fan S, Shen K, Crain S.** Opioids at low concentrations decrease openings of K<sup>+</sup> channels in sensory ganglion cells. *Brain Research* 1991; 558: 166-170

**Fantino, M., Hosotte, J., and Apfelbaum, M.** 1986. An opioid antagonist, naltrexone, reduces preference for sucrose in humans. *Am. J. Physiol.* 251, R91–R96.

**Feldman, P. D.; Parveen, N.; Sezen, S.** Cardiovascular effects of Leu-enkephalin in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.* 709:331–336; 1996.

**Ferrante, F. M.** Principles of opioid pharmacotherapy: Practical implications of basic mechanisms. *J. Pain Symptom Manage.* 11:265– 273; 1996.

**Ferraz, A. A. B.; Cowles, V. E.; Condon, R. E.; Schulte, W. J.** Opioid and nonopioid analgesic drug effects on colon contractions in monkeys. *Dig. Dis. Sci.* 40: 1417- 1419; 1995.

**Fuso L, Marini M, Marzano M, Nardecchia B, Roda LG, Rossi P, Urbani A.** Hydrolysis of peripheral leucine enkephalin in allergic asthma. *Clin Immunol* 1999;90:411–9.

**Gardell, L. R., Ibrahim, M., Wang, R., Wang, Z., Ossipov, M. H., Malan, T. P., Jr., Porreca, F., and Lai, J.** Mouse strains that lack spinal dynorphin upregulation after peripheral nerve injury do not develop neuropathic pain. 2004.*Neuroscience*123, 43–52..

**Gayle A. Olson, Richard D. Olson and Abba J. Kastin,** Endogenous opiates: 1995, *Peptides* Volume 17, Issue 8, 1996, Pages 1421-1466

**Gayle A. Olson, Richard D. Olson and Abba J. Kastin,** Endogenous Opiates: 1996, *Peptides* Volume 18, Issue 10, 1997, Pages 1651-1688

**Gayle A. Olson, Richard D. Olson and Abba J. Kastin,** Endogenous Opiates: 1996, *Peptides* Volume 18, Issue 10, 1997, Pages 1651-1688

**Gayle A. Olson, Richard D. Olson, Abba J. Kastin,** Endogenous opiates: 1994, *Peptides* Volume 16, Issue 8, 1995, Pages 1517-1555

**Giraud SQ, Grace MK, Billington CJ, Levine AS.** Differential effects of neuropeptide Y and the m-agonist DAMGO on 'palatability' vs. 'energy'. *Brain Res* 1999;834:160 –3.

**Gomez-Flores R, Weber RJ.** Inhibition of IL-2 production and downregulation of IL-2 and transferrin receptors on rat splenic lymphocytes following PAG morphine administration: a role in a natural killer and T cell suppression. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:625–30.

**GOODMAN & GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS** - 11th Ed. (Joel Griffith Hardman Lee E. Limbird Alfred G. Gilman. 2006)

**Grevel, J., and Sadee, W.** An opiate binding site in the rat brain is highly selective for 4,5-epoxymorphinans. *Science*, 1983, 221:1198-1201.

**Gyöngyi Horvath,** Endomorphin-1 and endomorphin-2: pharmacology of the selective endogenous  $\mu$ -opioid receptor agonists, *Pharmacology & Therapeutics* Volume 88, Issue 3, December 2000, Pages 437-463

**Handa, B.K., Land, A.C., Lord, J.A., et al.** Analogues of  $\beta$ -LPH61-64 possessing selective agonist activity at  $\mu$ -opiate receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 1981, 70:531-540.

**Hodge, C. W.; Niehus, J. S.; Samson, H. H.** Morphine induced changes in ethanol- and water-intake are attenuated by the 5-HT<sub>3</sub>/ 4 antagonist tropisetron (ICS 205-930). *Psychopharmacology* (Berlin) 119:186-192: 1995

**Hokfelt, T., Ljungdahl, A., Terenius, L., Elde, R., and Nilsson, G.** Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly related to pain and analgesia: enkephalin and substance P. 1977 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 3081–3085.

**Hughes J, Smith T, Kosterlitz H, Fothergill L, Morgan B, Morris H.** Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975; 258:577- 580.

**Hughes, J., Smith, T. W., Kosterlitz, H. W., Fothergill, L. A., Morgan, B. A., and Morris, H. R.** 1975. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258, 577–580.

**Hunt, S. P., Kelly, J. S., Emson, P. C., Kimmel, J. R., Miller, R. J., and Wu, J.-Y.** An immunohistochemical study of neuronal populations containing neuropeptides or gammaaminobutyrate within the superficial layers of the rat dorsal horn. 1981 *Neuroscience* 6, 1883–1898.

**Champion, H. C., Zadina, J. E., Kastin, A. J., & Kadowitz, P. J.** The endogenous m-opioid agonists, endomorphin 1 and 2, have vasodilator activity in the hindquarters vascular bed of the rat. (1997). *Life Sci* 61, PL409± PL415

**Chen, Q. and Huang, L. Y.** 1998. Dynorphin block of N-methyl- D-aspartate channels increases with the peptide length. *J. Pharmacol. Exp. Them.* 284, 824–831.

**Cho, H. J. and Basbaum, A. I.** Ultrastructural analysis of dynorphin B-immunoreactive cells and terminals in the upeficial dorsal horn of the deafferented spinal cord of the rat. 1989. *J. Comp. Neurol.* 281, 193–205.m

**Jane L. Harte, Georg H. Eifert, Roger Smith**, The effects of running and meditation on beta-endorphin, corticotropin-releasing hormone and cortisol in plasma, and on mood, *Biological Psychology*, Volume 40, Issue 3, June 1995, Pages 251-256

**Johnson P, Wang J, Wang W, Uhl G**. Expressed mu opiate receptor couples to adenylate cyclase and phosphatidyl inositol turnover. *Neuroreport* 1994; 5: 507-509

**Kane BE, Svensson B, Ferguson DM**. Molecular Recognition of Opioid Receptor Ligands. *AAPS Journal*. 2006; 8(1): E126-E137.

**Kapusta DR, Kenigs VA**. Cardiovascular and renal responses produced by central orphanin FQ/nociceptin occur independent of renal nerves. *Amer J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1999;46:R987– R995.

**Konig, M., Zimmer, A. M., Steiner, H., Holmes, P. V., Crawley, J. N., Brownstein, M. J, and Zimmer, A**. Pain responses, anxiety and aggression in mice deficient in preproenkephalin. 1996. *Nature* 383, 535–538.

**Koski H, Klee W**. Opiates inhibit adenylate cyclase by stimulating GTP hydrolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1981; 78: 4185-4189

**Kosterlitz, H. W. and Paterson, S. J.** (1981) Tyr-D-Ala-Gly MePhe-NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH is a selective ligand for the p-opiate binding site. *Br. J. Pharmacol.* 73: 299P.

**Law P, Mcginn T, Wick M, Erickson L, Evans C, Loh H**. Analysis of delta opioid receptor activities stably expressed in CHO cell lines: Function of receptor density? *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1994; 271: 1686-1694

**Le Magnen, J., Marfaing-Jallat, P., Miceli, D., and Devos, M.** 1980. Pain modulating and reward systems: a single brain mechanism? *Pharmacol. Biochem. Behav.* 12, 729–733.

**Liguori, A.; Morse, W. H.; Bergman, J.** Respiratory effects of opioid full and partial agonists in rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277:462– 472; 1996.

**Lioudyno, M. I., Verbitsky, M., Glowatzki, E., Holt, J. C., Boulter, J., Zadina, J. E., Elgoyhen, A. B., and Guth, P. S.** The alpha9/alpha10-containing nicotinic ACh receptor is directly modulated by opioid peptides, endomorphin-1, and dynorphin B, proposed efferent cotransmitters in the inner ear. 2002. *Mol. Cell. Neurosci.* 20, 695–711.

**Love TM, Stohler CS, Zubieta JK**. Positron emission tomography measures of endogenous opioid neurotransmission and impulsiveness traits in humans. *Arch Gen Psychiat* 2009;66:1124–34.

**Machelska, H., Mousa, S. A., Brack, A., Schopohl, J. K., Rittner, H. L., Schafer, M., and Stein, C.** Opioid control of inflammatory pain regulated by intercellular adhesion molecule-1. 2002. *J. Neurosci.* 22, 5588–5596.

**Marika Arduin, Barbara Spagnolo, Girolamo Calò, Remo Guerrini, Giacomo Carrà, Carmela Fischetti, Claudio Trapella, Erika Marzola, John McDonald, David G. Lambert, Domenico Regoli and Severo Salvadori**, Synthesis and biological activity of nociceptin/orphanin FQ analogues substituted in position

7 or 11 with  $\alpha,\alpha$ -dialkylated amino acids, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 15, Issue 13, 1 July 2007, Pages 4434-4443

**Martin, W.R., Eades, C.G., Thompson, J.A., Huppler, R.E., and Gilbert, P.E.** The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1976, 197:517-532.

**Martin-Schild, S., Gerall, A. A., Kastin, A. J., and Zadina, J. E.** Endomorphin-2 is an endogenous opioid in primary sensory afferent fibers. 1998. *Peptides* 19, 1783–1789.

**Martin-Schild, S., Gerall, A. A., Kastin, A. J., and Zadina, J. E.** 1999. Differential distribution of endomorphin 1- and endomorphin 2-like immunoreactivities in the CNS of the rodent. *J. Comp. Neurol.* 405, 450–471.

**Maslov, L. N.; Lishmanov, Y. B.** Change in opioid peptide level in the heart and blood plasma during acute myocardial ischaemia complicated by ventricular fibrillation. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 22:812-816; 1995.

**Mayfield KP, D'Alecy LG.** Delta-1 opioid agonist acutely increases hypoxic tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:683-8.

**Mayfield, K. P.; Kozak, W.; Malvin, G. M.; Porreca, F.** Hypoxia decreases opioid delta receptor expression in mouse brain. *Neuroscience* 72:785–789; 1996.

**McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S.** Localization of brain reinforcement mechanisms: i.c. self-administration and i.c. place-conditioning studies. *Behav Brain Res* 1999;101:129 –52.

**McDonald J., Lambert D.** (2005) Opioid receptors. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, Volume 5 Number 1

**Mededdu P, Salis MB, Milia AF, Emanuelli C, Guerrini R, Regoli D, Calo` G.** Cardiovascular effects of nociceptin in unanesthetized mice. *Hypertension* 1999;33:914 –19.

***Medical Pharmacology at a Glance***,. 4 edice,( Michael J . Nea L, Blackwell Science Ltd a blackwell Publishing Company 2002)

**Melchior JC, Rigaud D, Colas-Linhart N, Petiet A, Girard A, Apfelbaum M** Immunoreactive beta-endorphin increases after an aspartame chocolate drink in healthy human subjects. *Physiol Behav.* 1991 Nov;50(5):941-4.

**Meng, F., Ueda, Y., Hoversten, M.T., et al.** Creating a functional opioid alkaloid binding site in the orphanin FQ receptor through site-directed mutagenesis. *Mol Pharmacol.*, 1998, 53:772-777.

**Meng, F.; Xie, G.X.; Thompson, R.C.; Mansour, A.; Goldstein, A.; Watson, S.J.; and Akil, H.** Cloning and pharmacological characterization of a rat kappa opioid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:9954-9958, 1993.

**Meunier, J.-C., Mollerau, C., Toll, L., et al.** Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature*, 1995, 377:532-535.

**Michael S. Gazzaniga**, THE NEW COGNITIVE NEUROSCIENCES Second Edition, 2000  
Massachusetts Institute of Technology

**Miller, K. E. and Seybold, V. S.** Comparison of met-enkephalin, dynorphin A, and neurotensin immunoreactive neurons in the cat and rat spinal cords: II. Segmental differences in the marginal zone. 1989. J. Comp. Neurol. 279, 619–628.

**Modern Pharmacology With Clinical Applications** (Charles R. Craig, Robert E. Stitzel, Lippincott Williams & Wilkins; 6. edice 2003)

**Mosberg, H. I., Hurst, R., Hruby, V. J., Gee, K., Yamamura, H. I., Galligan, J. J. and Burks, T. F.** (1983) Bis-penicillamine enkephalins possess highly improved specificity toward  $\mu$  opioid receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 5871-5874.

**Mosberg, H.I., Hurst, R., Hruby, V.J., et al.** Bis-penicillamine enkephalins possess highly improved specificity toward delta opioid receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1983, 80:5871-5874.

Narita, M., Mizoguchi, H., Narita, M., Dun, N. J., Hwang, B. H., Endoh, T., Suzuki, T., Nagase, H., Suzuki, T., and Tseng, L. F. G protein activation by endomorphins in the mouse periaqueductal gray matter. 2000. J. Biomed. Sci. 7, 221–225.

**Neal, C.R., Jr., Mansour, A., Reinscheid, R., et al.** Opioid receptor-like (ORL1) receptor distribution in the rat central nervous system: Comparison of ORL1 receptor mRNA expression with  $^{125}\text{I}$ -( $^{14}\text{Tyr}$ )-orphanin FQ binding. J. Comp. Neurol., 1999, 412:563-605.

**NEUROSCIENCE: Third Edition**, (Dale Purves, George J Augustine, David Fitzpatrick, William C. Hall, Anthony-Samuel Lamantia, James o. McNamara, S. Mark Williams by Sinauer Associates 2004)

**North A.** Opioid Receptor types and membrane ion channels. Trends in Neurosciences. 1991; 114-117.

**Oka, T.** Enkephalin receptor in the rabbit ileum. Life Sci., 1980, 38:1889-1898.

**Opioids** (Handbook of Experimental Pharmacology), (Herz A. Springer-Verlag Telos; 1. edice 1993)

**Pain in infants, children, and adolescents** (Neil L. Schechter, Charles B. Berde, Myron Yaster, Lippincott Williams & Wilkins; Druhá edice 2002)

Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Le Trong I, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE, Yamamoto M, Miyano M (2000) Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. Science 289:739–745

**Pan Z, Hirakawa N, Fields HL.** A cellular mechanism for the bidirectional pain-modulating actions of orphanin FQ/nociceptin. Neuron 2000; 26: 515–22

**Pare, M., Elde, R., Mazurkiewicz, J. E., Smith, A. M., and Rice, F. L.** 2001. The Meissner corpuscle revised: a multiafferented mechanoreceptor with nociceptor immunochemical properties. J. Neurosci. 21, 7236–7246.



- Paredes, R.G. and Martínez, I.** (2001). Naloxone blocks place preference conditioning after paced mating in female rats. *Behav Neurosci* 115, 1363–1367
- Partin, C.,** 1983. Runner's "high." *Journal of American Medical Association*, 249: 21.
- Pasternak, G. W.** (1988) Multiple morphine and enkephalin receptors and the relief of pain. *JAMA* 259: 1362- 1367
- Pasternak, G. W. and Wood, P. J.** (1986) Multiple mu opiate receptors. *Life Sci.* 38: 1889-1898.
- Paul L. Schiff Jr.** *Opium and Its Alkaloids. American Journal of Pharmaceutical Education* Vol. 66, 2002, 186-194
- Pert CB, Snyder SH.** Opiate receptor:Its demonstration in nervous tissue.*Science* 1973; 179:1011-1014.
- Pert, C.B., and Snyder, S.H.** Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*, 1973, 179:1011-1014.
- Pierce, K. L., Premont, R. T., and Lefkowitz, R. J.** 2002. Seven transmembrane receptors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3, 639–650.
- Principles of Neural Science***, 4. Edice, ( Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessell, McGraw-Hill Companies 2000)
- Ragnauth A, Schuller A, Morgan M, Chan J, Ogawa S, Pintar J, et al.** Female preproenkephalin-knockout mice display altered emotional responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:1958–63.
- Richard J. Bodnar, and Gad E. Klein,** *Endogenous opiates and behavior: 2003, Peptides Volume 25, Issue 12, December 2004, Pages 2205-22560*
- Richard J. Bodnar, and Maria M. Hadjimarkou,** *Endogenous opiates and Behavior: 2002, Peptides Volume 24, Issue 8, August 2003, Pages 1241-1302*
- Ruda, M. A., Iadarola, M. J., Cohen, L. V., and Young, W. S.** In situ hybridization histochemistry and immunocytochemistry reveal an increase in spinal dynorphin biosynthesis in a rat model of peripheral inflammation and hyperalgesia. 1988. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 85, 622–626.
- Sacerdote, P., Limiroli, E., and Gaspani, L.** 2003. Experimental evidence for immunomodulatory effects of opioids. *Adv. Exp. Med. Biol.* 521, 106–116.
- Sanderson Nydahl K., Skinner, K., Julius, D., and Basbaum, A. I.** 2004. Co-localization of endomorphin-2 and substance P in primary afferent nociceptors and effects of injury: a light and electron microscopic study in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 19, 1789–1799.
- Scoto, G. M.; Parenti, C.** Central and peripheral involvement of endogenous opioid peptides in gastric protection in stressed rats. *Pharmacology* 52:56–60; 1996.
- Sharma S, Klee W, Niremberg M.** Morphine receptors as regulators of adenylate cyclase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1975; 72: 590-594

**Shen S, Ingenito AJ.** Depressor effect of kappa opioid agonist on hypertension induced by isolation in the rat. *Clin Exp Hypertension* 1999;21:275–97.

**Sher L.** Role of endogenous opioids in the effects of light on mood and behavior. *Med Hypotheses* 2001;57:609–11.

**Shweta A, Malpas SC, Anderson WP, Evans RG.** Effects of naloxone on the haemodynamic and renal functional responses to plasma volume expansion in conscious rabbits. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 1999;439:150–7.

**Schreff, M., Schulz, S., Wiborny, D., and Holtt, V.** 1998. Immunofluorescent identification of endomorphin-2-containing nerve fibers and terminals in the rat brain and spinal cord. *Neuroreport* 9, 1031–1034.

**Sigg DC, Coles Jr JA, Oeltgen PR, Iaizzo PA.** Role of delta-opioid receptor agonists on infarct size reduction in swine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282(6):H1953–1960.

**Simon, E.J., Hiller, J.M., and Edelman, I.** Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic <sup>3</sup>H-etorphine to rat brain homogenate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1973, 70:1947-1949.

**Soderpalm B, Svensson AI.** Naloxone reverses disinhibitory/aggressive behavior in 5,7-DHT-lesioned rats: involvement of GABAA receptor blockade? *Neuropharmacology* 1999;38:1851–9.

**Stefano, G. B.; Scharrer, B.; Smith, E. M.; Hughes, T. K., Jr.; Magazine, H. I.; Bilfinger, T. V.; Hartman, A. R.; Fricchione, G. L.; Liu, Y.; Makman, M. H.** Opioid and opiate immunoregulatory processes. *Crit. Rev. Immunol.* 16:109 –144; 1996.

**Stein, C., Hassan, A. H., Lehrberger, K., Giefing, J., and Yassouridis, A.** 1993. Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. *Lancet* 342, 321–324.

**Stein, C., Pfluger, M., Yassouridis, A., Hoelzl, J., Lehrberger, K., Welte, C., and Hassan, A. H.** No tolerance to peripheral morphine analgesia in presence of opioid expression in inflamed synovia. 1996. *J. Clin. Invest.* 98, 793–799.

**Tachibana, T., Miki, K., Fukuoka, T., Arakawa, A., Taniguchi, M., Maruo, S., and Noguchi, K.** Dynorphin mRNA expression in dorsal horn neurons after traumatic spinal cord injury: temporal and spatial analysis using in situ hybridization. 1998. *J. Neurotrauma* 15, 485–494.

**Terenius, L.** Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat brain cortex. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)*, 1973, 32:317-320.

**Thompson, R.C.; Mansour, A.; Akil, H.; and Watson, S.J.** Cloning and pharmacological characterization of a rat mu opioid receptor. *Neuron* 11:903-913, 1993.

**Varlinskaya EI, Spear LP.** Ethanol-induced social facilitation in adolescent rats: role of endogenous activity at mu-opioid receptors. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33:991–1000.

**von Voigtlander, P F., Lahti, R. A. and Ludens, J. H.** (1983) U50,488: a selective and structurally novel non-mu (kappa) opioid agonist, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 224: 7-12.

**Vonvoigtlander, P.F., Lahti, R.A., and Ludens, J.H.** U-50,488: A selective and structurally novel non-mu (kappa) opioid agonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1983, 224:7-12

**Wenk, H. N. and Honda, C. N.** 1999. Immunohistochemical localization of delta opioid receptors in peripheral tissues. *J. Comp. Neurol.* 408, 567–579.

**Xie G, Meng F, Mansour A, Thompson R, Hoverstern M, Goldstein A, Watson S, Akil H.** Primary structure and functional expression of guinea pig kappa opioid (dynorphin) receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 1994; 91: 3779-3783

**Yamamoto, T., Sako, N., and Maeda, S.** 2000. Effects of taste stimulation on  $\delta$ -endorphin levels in rat cerebrospinal fluid and plasma. *Physiol. Behav.* 69, 345–350.

**Zagon, I. S.; Hytrek, S. D.; McLaughlin, P. J.** Opioid growth factor tonically inhibits human colon cancer cell proliferation in tissue culture. *Am. J. Physiol.* 271:R511–R518; 1996.

**Zagon, I.S., Goodman, S.R., and McLaughlin, P.J.** Characterization of zeta: A new opioid receptor involved in growth. *Brain Res.*, 1989, 482:297-305.

**Zukin, R. S., Eghbali, M., Olive, D., Unterwald, E. M. and Tempel, A.** (1988) Characterization and visualization of rat and guinea pig brain  $\kappa$  opioid receptors: evidence for  $\kappa_1$  and  $\kappa_2$  opioid receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 4061-4065.

Internetové zdroje:

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/26/Buprenorphine.gif>

<http://opioids.com/naloxone/naloxone.jpg>

[http://www.drogy.net/images/articles/naltrexone-may-be-given-to-scottish-opiate-users-family-friends-\\_2006\\_06\\_06.jpg](http://www.drogy.net/images/articles/naltrexone-may-be-given-to-scottish-opiate-users-family-friends-_2006_06_06.jpg)

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Beta-endorphin\\_1-9.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Beta-endorphin_1-9.png)

<http://rpmedia.ask.com/ts?u=/wikipedia/commons/thumb/1/10/Met-enkephalin.png/200px-Met-enkephalin.png>

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c7/Leu-enkephalin.png/300px-Leu-enkephalin.png>

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/cf/Dynorphin\\_A.svg/800px-Dynorphin\\_A.svg.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/cf/Dynorphin_A.svg/800px-Dynorphin_A.svg.png)

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/80/Dynorphin\\_B.svg/800px-Dynorphin\\_B.svg.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/80/Dynorphin_B.svg/800px-Dynorphin_B.svg.png)

<http://www.lookchem.com/UserFilesUpload/189388-22-5.gif>

<http://www.sigmaaldrich.com/thumb/structureimages/64/mfcd01321064.gif>

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/4c/Nociceptin.png/220px-Nociceptin.png>