

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ μ -ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ С ИОННЫМИ КАНАЛАМИ И G-БЕЛКАМИ

Ю. Б. Лишманов¹, Л. Н. Маслов^{1,2}, Н. В. Соленкова²

Обзор посвящен современному состоянию исследований μ -опиоидного рецептора (μ -ОР). Приводятся литературные данные о взаимодействии между μ -ОР и различными G-белками. Обобщаются сведения о нейтральных антагонистах и обратных агонистах μ -опиоидного рецептора. Обсуждаются данные о спонтанной активации μ -ОР. Анализируются публикации о взаимодействии между μ -ОР и GIRK-, K_{ATP} -, K_v -каналами. Обсуждается роль L-, N-, P/Q-типов Ca^{2+} -каналов в μ -ОР-опосредованном внутриклеточном сигналинге.

Ключевые слова: μ -опиоидный рецептор, G-белки, K^+ -каналы, Ca^{2+} -каналы

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярная структура μ -опиоидного рецептора (μ -ОР) морфина идентифицирована сравнительно недавно. В 1993 г. одновременно в нескольких лабораториях был клонирован μ -рецептор крысы, состоящий из 398 аминокислот [20, 32, 96]. В том же году удалось клонировать μ -рецептор человека [103]. В настоящее время доказано существование альтернативного сплайсинга μ -опиоидного рецептора у мыши, крысы и человека [73 – 75]. Обычно клетки и ткани экспрессируют одновременно несколько изоформ μ -рецептора [73 – 75]. Работая с нативными μ -ОР, исследователи фактически выполняют эксперименты с гетерогенной популяцией, состоящей из нескольких сплайс-вариантов μ -ОР, что затрудняет трактовку результатов. Избежать этой проблемы можно в экспериментах с клонированными рецепторами, когда трансфицированная клетка экспрессирует только один сплайс-вариант рецептора с известной молекулярной структурой. Такие μ -опиоидные рецепторы принято обозначать “MOR”, тем самым подчеркивая, что речь идет только об одной изоформе μ -ОР с известной структурой. Установлено, что μ -рецептор принадлежит к суперсемейству G-белок-сопряженных (GPCR, от G-protein coupled receptor) рецепторов [53, 75]. Как показано на рис. 1, семь участков (доменов) полипептидной цепочки μ -ОР свернуты в α -спираль, состоящую из гидрофобных остатков аминокислот [53, 75]. Эти семь доменов интегрированы в клеточную мембрану. Полипептидная цепочка μ -рецептора как бы “прошивает” плазмолемму (рис. 1). Интеграция μ -ОР с гидрофобной мембра-

ной клетки усиливается за счет ковалентного присоединения к цистеину С-терминали пальмитиновой кислоты (пальмитоилация) [53], а по данным С. Chen и соавт. пальмитоилации подвергаются остатки цистеина в интрацеллюлярных петлях, а не в С-терминали [22]. Таким образом, вопрос о месте включения пальмитина в молекулу μ -рецептора является спорным, однако сам факт пальмитоилации никто не отрицает, поэтому μ -опиоидный рецептор можно отнести к липопротейнам. На внешней и внутренней сторонах мембраны находятся участки μ -ОР, состоящие из гидрофильных аминокислот (рис. 1). К экстрацеллюлярным доменам ковалентно прикреплены олигосахариды, поэтому μ -рецептор является гликопротеином. Возможно, что подобное гликозилирование позволяет этому рецептору взаимодействовать с эндогенными антителами IgG, которые наряду с опиоидными пептидами могут выполнять роль агонистов μ -ОР у человека [58]. Экстрацеллюлярные петли и NH_2 -терминаль μ -рецептора взаимодействуют с лигандами, а интрацеллюлярные участки осуществляют взаимодействие рецептора с G-белками и некоторыми протеинкиназами, которые, фосфорилируя серин, треонин и тирозин, могут модулировать активность μ -ОР [8 – 10, 53]. Ответ клетки на активацию μ -опиоидного рецептора зависит от того, какие G-белки и эффекторы она экспрессирует [29].

Взаимодействие μ -опиоидных рецепторов с G-белками. G-белок (от GTP-binding protein, G-protein) является гетеротримером, состоящим из трех субъединиц (α , β , γ), выполняющих роль посредников между рецептором и белками-эффекторами (так принято называть рецептор-регулируемые ферменты или ионные каналы [87, 94]). Этот гетеротример, в отличие от опиоидных рецепторов, состоит, главным образом, из гидрофильных аминокислотных остатков, поэтому он

¹ НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634050, ул. Киевская, 111. E-mail: Maslov@cardio.tsu.ru.

² Томский государственный педагогический университет.

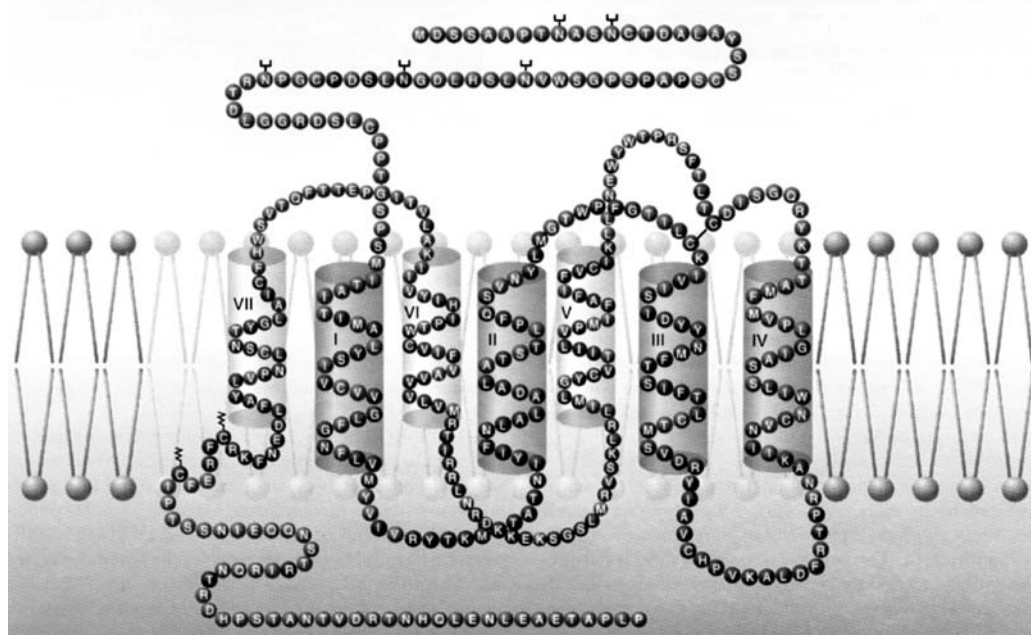


Рис. 1. Структура μ -опиоидного рецептора. Латинскими буквами обозначены аминокислотные остатки, согласно международной классификации

растворим в воде и может кристаллизоваться подобно гемоглобину [33]. Как же в таком случае он прикрепляется к плазмолемме, где расположены рецепторы? Достигается это с помощью посттрансляционной модификации G-белка, а точнее — его γ -субъединицы, цистеин которой подвергается изопренилации [33]. Так принято называть ковалентное присоединение одного из трех полиизопренолов, состоящих из 10-(геранил), 15- (фарнезил) и 20-(геранилгеранил) углеродных атомов [33]. Эти углеводороды отличаются большой гидрофобностью, поэтому γ -субъединица, а с ней и другие составляющие G-белка, достаточно прочно фиксируются к внутренней поверхности цитолеммы, что позволяет G-протеину эффективно взаимодействовать с рецептором.

α -Субъединица G-белка связывает нуклеотиды (ГТФ и ГДФ) и обладает ГТФазной активностью [27, 33, 87, 94]. Установлено, что эффекторами α -субъединицы являются аденилатциклаза, цГМФ-фосфодиэстераза и фосфолипаза C β [27, 33, 87, 94]. В работах, посвященных G-белкам, установлено, что одни α -субъединицы могут активировать синтез цАМФ, их обозначили α_s (от stimulation), а другие α -субъединицы, напротив, ингибируют аденилатциклазу, их назвали α_i (от inhibition) [87, 94]. В дальнейшем обозначение “s” и “i” закрепилось за G-белками, которые называют G $_s$, G $_i$, G $_o$, G $_q$, G $_{11}$, G $_{16}$, в зависимости от того какую γ -субъединицу они содержат [27, 33, 87, 94]. Большая часть G-протеинов проявляет высокую чувствительность к действию коклюшного токсина (РТХ, от pertussis toxin) [27]. Этот энзим, выделенный из бактерий коклюша *Bordetella pertussis*, способен проникать

через цитолемму и катализировать АДФ-рибозилирование остатков цистеина в 67 и 69 положении в α -субъединице [27, 65]. Такая модификация гетеротримера приводит к потере его биологической активности [27]. Все G-белки подразделяются на РТХ-чувствительные, к ним относят G $_{11}$, G $_{12}$, G $_{13}$, G $_{01}$, G $_{02}$, и на РТХ-нечувствительные — G $_s$, G $_z$, G $_{16}$ [29]. Последние нечувствительны к действию РТХ, потому что у них отсутствует цистеин в С-терминали [27]. Помимо РТХ, в экспериментальных работах часто применяют холерный токсин, который осуществляет избирательное АДФ-рибозилирование остатков аргинина в α -номере G $_s$ -протеина. Подобная модификация α -субъединицы приводит к ее стойкой активации и, соответственно, к стимуляции сопряженных с ней эффекторов [35, 65]. В этом случае клетка перестает реагировать на оккупацию агонистами всех рецепторов, сопряженных с G $_s$ -протеинами [35, 65].

Две другие составляющие G-белка (β , γ) функционируют и кристаллизуются только совместно [27, 33]. Этот комплекс сохраняет стабильность даже после ограниченного энзиматического гидролиза [27]. В настоящее время установлена молекулярная структура шести β - и 13 γ -субъединиц [27, 33]. Эффекторами β, γ -субъединиц являются GIRK-каналы (от G-protein-coupled inwardly rectifying K $^+$ channels), фосфолипаза A $_2$, фосфолипаза C β , аденилатциклаза II- и IV-типа, ряд протеинкиназ и, возможно, Ras-белок (цитоплазматический регуляторный белок, обладающий ГТФазной активностью) и кальциевые каналы N-типа [8, 27, 33, 56]. Таким образом, в настоящее время установлено, что β, γ -субъединицы имеют даже большее

сигнальное значение, чем α -субъединицы. Однако полноценно функционировать они могут только совместно в виде гетеротримера.

Последовательность событий, связанных с активацией GPCR, развивается следующим образом. Агонист связывается с рецептором, что ведет к изменению его конформации, а затем и конформации G-белка [87, 94]. Вслед за этим происходит диссоциация комплекса ГДФ и α -субъединицы [87, 94]. Последняя связывается с ГТФ. Это событие приводит к диссоциации уже G-протеина на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы, каждая из которых активирует или ингибирует свой эффектор [87, 94]. Затем следует гидролиз связанного ГТФ до ГДФ и реассоциация составляющих G-белка в неактивный комплекс [87, 94]. Опиоидные рецепторы принадлежат к метаботропным (медленным) рецепторам, поэтому весь цикл занимает у них одну минуту [7, 97], что вполне достаточно для активации сигнального каскада (так называют последовательность событий, происходящих в клетке после активации рецептора). При наличии в среде инкубации клеток опиоида цикл активации-инактивации μ -ОР может повторяться, по меньшей мере, в течение 20 мин без десенситизации рецептора [7]. В настоящее время получены данные о том, что в случае G_i -протеина диссоциации гетеротримерного комплекса не происходит, изменяется только пространственная структура его составляющих [13]. Однако сути дела это не меняет, в любом случае все субъединицы могут полноценно функционировать только совместно. Замена даже одной аминокислоты, например, цистеина в γ -субъединице, может привести к потере активности всего G-белка [33].

Поскольку α -субъединица G-белка является ГТФазой, то первой реакцией клетки на активацию рецептора является увеличение ГТФазной активности, поэтому в ранних работах, посвященных опиоидным рецепторам, определение ГТФазной активности использовали как тест для оценки стимуляции ОР [30, 49]. В настоящее время от этого метода отказались. Повсеместно для указанной цели используют более простой и надежный метод — определение связывания с клеточными мембранами энзимостойчивого меченного аналога ГТФ — гуанозин-5'-О-(3-[35 S]тио)-трифосфата ([35 S]ГТФ- γ -S) [44, 54, 108, 113]. Этот же метод позволяет определить: является ли вновь синтезированный лиганд агонистом или антагонистом ОР. Агонисты усиливают связывание [35 S]ГТФ- γ -S с мембранами. Блокаторы ОР делят на две группы: первые ингибируют связывание [35 S]ГТФ- γ -S (их называют “обратными агонистами”); вторые не влияют на этот процесс (их называют “нейтральными антагонистами”) [44, 54, 108, 113]. Кроме того, для оценки активации G-протеинов используют еще один энзимостойчивый аналог ГТФ — азидаанилидо- $[\alpha$ - 32 P]ГТФ [54]. Этот фармакологический “инструмент” настолько прочно связывается с активированными G-белками, что позволяет вы-

делять их из тканей и подвергать электрофорезу в геле с последующим определением радиоактивности отдельных протеинов [54]. Этот метод позволяет количественно оценить активацию различных изоформ G-белка.

От взаимодействия μ -опиоидных рецепторов с G-протеинами зависит функция сигнального каскада, который “включается” после активации μ -ОР. Последние могут кооперироваться не со всеми G-белками, а только с некоторыми из них. Так, установлено, что μ -рецепторы взаимодействуют, главным образом, с РТХ-чувствительными G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -, G_{o1} -, G_{o2} - протеинами, поэтому эффекты μ -агонистов ингибируются не только антагонистами μ -ОР, но и коклюшным токсином (РТХ) [16, 18, 29]. Однако в некоторых клетках μ -рецепторы сопряжены с РТХ-нечувствительными G_z - и G_{16} -белками. Такие клетки не реагируют на действие пертуссис токсина [18, 29]. Практически все исследователи исключают взаимодействие μ -ОР со следующими G-белками: G_s , G_q , G_{11} , G_{12} , G_{13} , G_{14} [14, 16, 18, 29]. Однако существуют два исключения из этого правила. Первым из них является работа R. A. Cruciани и соавт., которые, работая на клетках линии F-11 и NCB-20, получили данные о том, что в этих клетках μ - и δ -опиоидные рецепторы сопряжены с G_s -протеинами [31]. В исследовании, выполненном L. Wang и A. R. Gintzler на препаратах изолированного тонкого кишечника морской свинки, показано, что μ -ОР сопряжены G_s -белками [31, 106]. В обоих случаях основанием для подобного вывода послужило усиление синтеза цАМФ в ответ на оккупацию опиоидных рецепторов [31, 106]. Этот эффект отсутствовал в условиях блокады G_s -протеинов холерным токсином, что и послужило основанием для утверждения о сопряжении μ -ОР и G_s -белков [31, 106]. Однако результаты этих работ до сих пор не подтверждены в независимых исследованиях, поэтому их достоверность вызывает сомнение.

Остановимся на данных о кооперации μ -ОР и G-протеинов более подробно, поскольку от этого взаимодействия зависит реакция клетки на активацию μ -ОР. Одна из первых работ, посвященных этой проблеме, была выполнена в 1993 г. на клетках нейробластомы SH-SY5Y [15]. Авторами показано, что 50 – 60 % μ -ОР в этих клетках сопряжено с G_o -белками, остальные μ -рецепторы связаны с G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -протеинами [15]. Однако наиболее исчерпывающие данные об интеграции μ -ОР и G-белков получены в экспериментах, выполненных на трансфицированных клетках. Такие клетки являются удобным объектом для исследования, поскольку плотность опиоидных рецепторов и количество G-белков у них искусственно увеличены в несколько раз по сравнению с нативными клетками, что позволяет легко зарегистрировать клеточный ответ на стимуляцию ОР [18, 52]. Работая на трансфицированных клетках линии НЕК293, исследователи показали, что μ -ОР могут

быть сопряжены с G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -, G_{o1} -, G_{o2} -, G_z -белками, если клетка их экспрессирует [18, 98]. В то же время, μ -рецепторы не взаимодействуют с G_s -, G_q -, G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -, G_{i4} -протеинами даже если клетка синтезирует эти белки в очень большом количестве [18]. Годом позднее тот же коллектив исследователей обнаружил, что μ -ОР в трансфицированных клетках линии COS-7 могут быть сопряжены с G_{i6} -белком [52]. Впрочем, в 2002 г. те же авторы опровергли собственные данные о том, что μ -рецепторы в указанных клетках могут взаимодействовать с G_{i6} -протеинами [41]. По многим позициям ($G_{i/o}$) эти результаты были подтверждены в независимых исследованиях [14, 114].

Перечисленные исследования были выполнены на трансфицированных клетках, которые существенно отличаются от нативных клеток, поэтому возникает вопрос о том, как дело обстоит *in vivo*. Одними из первых попытались ответить на вопрос В. D. Carter и F. Medzihradsky [15]. Добавляя специфические антитела к гомогенату стриатума, они выяснили, что μ -ОР сопряжены с G_o -протеинами, а δ -ОР взаимодействуют с G_{i1} - и G_{i2} -белками [15]. В более поздних работах исследователи использовали интрацеребровентрикулярное введение антисенсов. Так называют олигонуклеотиды, которые селективно связываются с мРНК и блокируют ее трансляцию [83, 90]. Через 48 ч после такой процедуры количество соответствующих G-белков в головном мозге уменьшается в несколько раз [83, 90]. Оказалось, что после микроинъекции антисенсов к G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -, G_{o1} -, G_{o2} -, G_q -, G_{i1} - и G_z -протеинам антиноцицептивный эффект μ -агонистов снижается [83, 84, 90]. Следовательно, антиноцицептивный эффект агонистов μ -ОР связан с активацией перечисленных G-белков. Сходные результаты получены и другими исследователями [17, 92]. Следует отметить, что все эти работы касаются только головного мозга. Как дело обстоит в периферических органах и тканях — пока не известно. Кроме того, читатель может обратить внимание на определенное расхождение между данными, полученными *in vivo* [83, 84, 90], и результатами экспериментов, выполненных *in vitro* на трансфицированных клетках [14, 18, 114]. Так, эксперименты с использованием антисенсов свидетельствуют, что в антиноцицептивном действии μ -агонистов участвуют G_q - и G_{i1} - протеины [83, 84, 90], а эксперименты с клонированными μ -ОР говорят о том, что эти рецепторы не сопряжены с G_q -, и G_{i1} -белками [18]. Возможно, что указанные G-белки не сопряжены с μ -ОР *in vivo* и активация G_q - и G_{i1} -протеинов происходит не под действием опиоидов, а под действием нейромедиаторов (например, серотонина или дофамина), мобилизацию которых вызывают опиоиды [1, 48].

Выше мы уже упоминали о работе В. D. Carter и F. Medzihradsky [15], в которой было показано, что μ - и δ -опиоидные рецепторы сопряжены с различными G-протеинами. В исследовании [41] показано, что с

G_{i6} белками сопряжены δ -, κ - и ORL1-рецепторы, но не μ -ОР. Значит, реакция клетки на стимуляцию различных опиоидных рецепторов также может быть разной. В последние годы появились публикации о том, что различные изоформы μ -ОР также сопряжены с разными G-белками [83, 84, 92]. Иными словами, ответ клетки на оккупацию μ -рецептора может зависеть не только от того, какие G-протеины она синтезирует, но и от того, какие изоформы μ -ОР она экспрессирует.

Таким образом, результаты исследований, выполненных как *in vivo*, так и *in vitro* на клонированных μ -ОР, свидетельствуют, что μ -рецепторы сопряжены с G_{i1} -, G_{i2} -, G_{i3} -, G_{o1} - G_{o2} - и G_z -протеинами. Как же тогда объяснить вышеупомянутые данные [31, 106] о сопряжении μ -ОР с G_s -белками? Ясного ответа на этот вопрос пока нет. Возможно, что активация μ -рецепторов в некоторых клетках приводит к освобождению этими клетками какого-то аутокоида, который активирует свой рецептор и сопряженный с ним G_s -белок и аденилатциклазу. Возможно, что в некоторых клетках μ -ОР действительно интегрированы с G_s -белками.

Такое детальное ознакомление читателя с взаимодействием G-протеинов и μ -рецепторов важно для понимания клеточного ответа на активацию μ -ОР. Рассмотрим, к примеру, такое необычное явление, как спонтанная активация опиоидных рецепторов. Первое сообщение об этом феномене появилось в 1989 г. [30]. Работая с мембранами клеток линии NG108 – 15, Т. Costa и А. Herz установили, что добавление в среду инкубации этих клеток агониста δ -рецепторов DADLE и/или дипренорфина приводит к активации ГТФазы (α -субъединица G-белка) [30]. Этот результат можно рассматривать как активацию G-белков, сопряженных с опиоидными рецепторами. Антагонисты ОР налоксон и MR 2266 не влияли активность α -субъединицы, что тоже не удивительно [30]. Однако в следующей серии экспериментов авторы получили неожиданный результат [30]. Оказалось, что селективный антагонист δ -ОР ICI 174,864 (N,N-Dialyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-Leu-OH) сам по себе снижает активность ГТФазы ниже базального уровня [30]. Другие исследователи, наверное, сочли бы этот факт досадной ошибкой или следствием неспецифического действия ICI 174,864 на ГТФазу, но Т. Costa и А. Herz предположили, что ингибирование ГТФазы может быть результатом селективного взаимодействия ICI 174,864 с δ -ОР. Они повторили свой эксперимент на мембранах клеток NG108 – 15, которые предварительно несколько часов инкубировали с DADLE для десенситизации δ -ОР [30]. Оказалось, что ГТФаза этих клеток переставала реагировать на ICI 174,864 [30]. Эксперимент повторили с клетками, преинкубированными с РТХ. ГТФаза таких клеток также теряла чувствительность к влиянию δ -антагониста [30]. Преинкубация NG108 – 15 (линия клеток нейроblastомы) с β -хлоралтрексамином (β -CAN, от β -chlor-

naltrexamine), который алкилирует все ОР и тем самым блокирует их, также обеспечила толерантность ГТФаза к действию ICI 174,864 [30]. Сопоставив эти факты, исследователи постулировали наличие у δ -опиоидных рецепторов способности к спонтанной активации в отсутствие агониста [30]. Кроме того, они предположили, что некоторые антагонисты, например, ICI 174,864, могут проявлять высокое сродство именно к спонтанно активировавшимся δ -ОР и назвали эти препараты “обратными агонистами”, поскольку они оказывают на клетку эффект, обратный действию агонистов [30]. Те же блокаторы ОР, которые не влияют на клетку, авторы назвали “нейтральными антагонистами” [30]. Способность δ -ОР к спонтанной активации была подтверждена в работе К. Носохата и соавт. [44] и во многих других независимых исследованиях, выполненных в 90-х годах прошлого века. Обсуждение этих работ выходит за рамки данного обзора. Отметим лишь, что вплоть до недавнего времени отсутствовали убедительные данные о способности μ -ОР к спонтанной активации.

Первые сообщения о спонтанной активации μ -ОР были опубликованы в 2000 г. [14, 107]. Эти исследования были выполнены на линии эмбриональных клеток почки человека — НЕК293 (human embryonic kidney 293 cells), которые в норме не экспрессируют ОР. После трансфекции НЕК293 стали экспрессировать μ -рецептор человека (hMOR) в очень большом количестве — 3,5 пмоль/мг белка [108]. Для сравнения: плотность μ -ОР в клетках стриатума составляет 0,3 пмоль/мг белка [54]. Поэтому, работая с клетками НЕК293-hMOR, легко зафиксировать все эффекты, связанные с активацией μ -рецепторов. Выполняя эксперименты с мембранами НЕК293-hMOR, авторы обнаружили, что неселективный антагонист ОР β -CAN (β -chlornaltrexamine) и/или δ -антагонист BNTX (7-benzylidenenaltrexone) ингибируют включение в мембраны этих клеток [35 S]ГТФ- γ -S [14, 107]. В данном случае клетки инкубировались с β -CAN всего несколько минут, что не позволяло этому препарату алкилировать ОР [14, 107], и речь могла идти только об обратимой блокаде hMOR-рецепторов. Возможность взаимодействия BNTX с δ -рецепторами также можно исключить, поскольку НЕК293-hMOR-клетки их не экспрессируют. Следовательно, в данных экспериментах β -CAN и BNTX могли действовать только как обратные антагонисты. Эти результаты авторы рассматривают как прямое доказательство спонтанной активации клонированных hMOR-рецепторов [14, 107]. Попутно исследователи установили, что BNTX в концентрациях, превышающих 200 нМ может действовать как обратный μ -агонист, а для блокады δ -рецепторов требуются концентрация менее 100 нМ [14, 107]. В более поздней работе, выполненной на НЕК293-hMOR-клетках, этот же коллектив провел

сравнительный анализ различных антагонистов ОР на предмет их обратного агонизма [109]. Оказалось, что по способности ингибировать базальное связывание [35 S]ГТФ- γ -S с мембранами антагонисты распределяются следующим образом: β -CAN > клоциннамокс > BNTX > налмефен [109]. По способности стимулировать синтез цАМФ антагонисты выстраивались в такой ряд: BNTX > β -CAN > клоциннамокс [109]. Кроме того, в ходе этой работы выяснилось, что целый ряд лигандов ОР (наллоксон, налтрексон, СТАР³, β -FNA, 6 β -налтрексол, 6 β -наллоксол, 6 β -налтрексамин, 6 α -налтексол) проявляют свойства нейтральных антагонистов, как в тесте с [35 S]ГТФ- γ -S-связыванием, так и в экспериментах по синтезу цАМФ [109].

Результаты работ [14, 107] были подтверждены в независимом исследовании, выполненном на клетках линии GH₃ (линия клеток гипофиза крысы), полученных из гипофиза крыс [54]. Эти клетки, как и клетки линии НЕК293, не имеют ОР, которые экспрессируются только после трансфекции специфических векторов [54]. Поэтому сопоставление реакции клеток GH₃ и GH₃-MOR позволяет легко выявить клеточные ответы, связанные с активацией или блокадой μ -опиоидных рецепторов. Используя подобный сравнительный анализ, авторы установили, что у клеток GH₃-MOR активность аденилатциклазы ниже, а базальный уровень связывания [35 S]ГТФ- γ -S с мембранами выше, чем у исходных GH₃ [54]. Этот факт авторы расценили, как косвенный признак спонтанной активации MOR-рецепторов в клетках GH₃-MOR, поскольку стимуляция этих рецепторов агонистами приводит к угнетению синтеза цАМФ и усилению связывания аналога ГТФ [54]. Инкубация клеток GH₃-MOR в течение суток с РТХ повышала базальную активность аденилатциклазы и снижала связывание [35 S]ГТФ- γ -S в 2,5 раза, что говорит об участии рецепторов, сопряженных с G_{i/o}-белками, в ингибировании синтеза цАМФ и усилении связывания аналога ГТФ [54]. Напомним, что μ -ОР сопряжены с G_{i/o}-белками, поэтому различия между GH₃- и GH₃-MOR-клетками могли быть связаны со спонтанной активацией μ -рецепторов в последних. Сходный с действием РТХ эффект оказывал μ -агонист β -FNA (β -funaltrexamine), который алкилирует μ -ОР [54]. Если в среду инкубации одновременно с β -FNA (100 нМ) вносили наллоксон (10 мкМ), а затем отмывали клетки от обоих антагонистов, то никаких изменений в активности аденилатциклазы и связывании аналога ГТФ обнаружить не удавалось, что говорит в пользу специфичности и селективности действия β -FNA по отношению к MOR-рецепторам [54]. Эти факты авторы расценивают как веский аргумент в пользу спонтанной активации клонированных MOR-рецепторов и как доказательство обратного аго-

³ СТАР – NH₂-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-L-Pen-Thr-NH₂

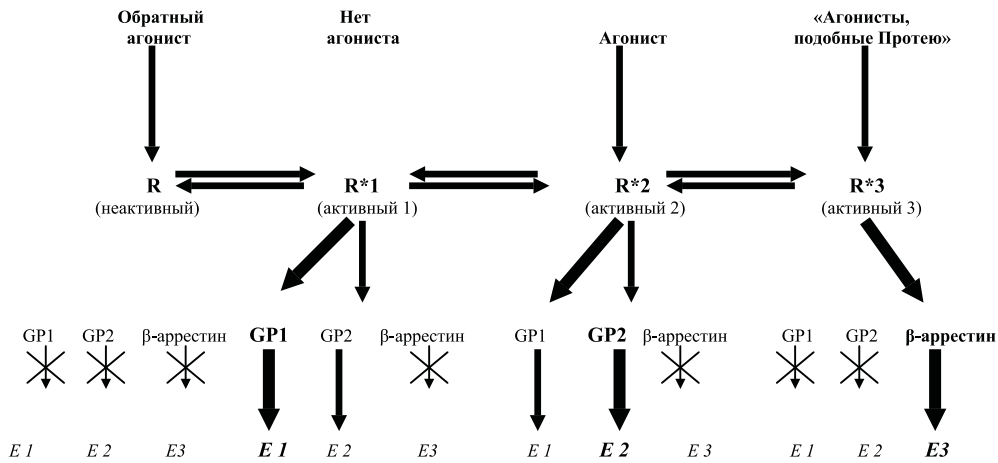


Рис. 2. Конформация μ -опиоидного рецептора. R — неактивная конформация. R* — активная конформация. E — эффектор. GP — G-протеин. (по P. L. Prather, [78])

низма β -FNA [54]. Последний факт противоречит вышеупомянутым данным D. Wang и соавт. [109], которые сообщили о нейтральном антагонизме β -FNA. Возможно, что разница в результатах связана с тем, что J. G. Liu и соавт. проводили свои эксперименты на GH_3 -MOR-клетках [54], а D. Wang и соавт. — на HEK293-hMOR-клетках [109]. Используя для оценки активности G-белков азидоанилидо- $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{ГТФ}$, авторы установили, что спонтанная активация μ -ОР приводит к повышению активности следующих белков: $G_{\text{ia}3} = G_{\text{ia}2} > G_{\text{oa}1} = G_{\text{oa}2}$ [54]. В то же время активация этих же MOR-рецепторов с помощью μ -агониста DAMGO обеспечивает стимуляцию: $G_{\text{oa}1} = G_{\text{oa}2} > G_{\text{ia}2} > G_{\text{ia}3}$ [54]. Этот факт позволил предположить, что спонтанно активировавшийся μ -ОР имеет конформацию, отличную от конформации рецептора, активированного с помощью DAMGO [78]. В одной из последних работ P. L. Prather постулировал существование четырех конформаций μ -ОР: R (неактивная), R*1 (активная), R*2 (активная), R*3 (активная) [78]. Как показано на рис. 2, высокое сродство к R-конформации проявляют обратные агонисты, R*1 — это спонтанно активировавшиеся рецепторы, R*2 — это результат взаимодействия агониста с μ -ОР [78]. Конформации R*1 и R*2 активируют различные G-протеины [78]. Сигнальные эффекты R*3-конформации опосредованы через белок β -аррестин и не зависят от G-белков [78]. По мнению автора гипотезы, все конформации находятся в равновесии друг с другом, и это равновесие смещается в ту или в иную сторону в зависимости от присутствия лигандов ОР [78]. Так, обратные агонисты смещают равновесие в сторону R, агонисты — в сторону R*2 [78]. Нейтральные антагонисты (наллоксон и налтрексон), как полагает P. L. Prather, могут взаимодействовать со всеми конформациями μ -ОР [78]. Гипотеза P. L. Prather, на наш взгляд, не является идеальной. Так, например, она не объясняет появление низкоаффинного и высокоаффинного состояния μ -ОР после олигомериза-

ции μ - и δ -опиоидных рецепторов [34]. Тем не менее, гипотеза P. L. Prather на сегодняшний момент является наиболее логичным объяснением спонтанной активации μ -ОР, поэтому к этой гипотезе мы будем возвращаться в ходе обсуждения литературных данных.

Представленные выше сведения показывали существование спонтанной активации клонированных MOR-рецепторов. Однако до 2004 г. было не ясно, может ли наблюдаться спонтанная активация μ -ОР *in vivo*. Выполняя эксперименты с гомогенатом мозга мышей, D. Wang и соавт. обнаружили, что обратные μ -агонисты BNTX и β -CAN вызывают снижение связывания $[\text{}^{35}\text{S}]\text{ГТФ-}\gamma\text{-S}$ с мембранами [110]. Этот результат не является артефактом, поскольку снижение связывания $[\text{}^{35}\text{S}]\text{ГТФ-}\gamma\text{-S}$ отсутствовало у трансгенных мышей, лишенных гена, кодирующего μ -ОР [110]. Таким образом, впервые удалось получить данные о существовании спонтанной активации μ -ОР *in vivo*. Необходимо отметить, что явление спонтанной активации присуще не только опиоидным рецепторам, но и некоторым другим GPCR (G-белок-сопряженный рецептор), например, серотониновым 5- $\text{HT}_{2\text{C}}$ -рецепторам, α_2 -адренорецепторам, β_2 -адренорецепторам, дофаминовым D_2 -рецепторам [87, 94].

Может сложиться впечатление, что сказанное выше о спонтанной активации μ -рецепторов представляет интерес только для фармакологов, работающих с клонированными ОР. Однако в последние годы были получены данные о том, что явление спонтанной активации μ -ОР может иметь прямое отношение к формированию опиатной зависимости. Выполняя эксперименты с клетками HEK293-hMOR, D. Wang и соавт. обнаружили, что инкубация (16 ч) этих клеток с морфином приводит к увеличению на 13 % базального связывания $[\text{}^{35}\text{S}]\text{ГТФ-}\gamma\text{-S}$ с мембранами после удаления морфина из среды инкубации. При этом сродство самого морфина к hMOR-рецепторам снижается в 4 раза [107, 108]. Таким образом, хроническое воздействие

морфина приводит к десенситизации hMOR-рецепторов (R*2 конформация) и одновременно усиливается спонтанная активность μ -OR (R*1 конформация). Эти данные были подтверждены в независимом исследовании, выполненном на клетках GH₃-MOR [55]. Оказалось, что инкубация этих клеток в течение 48 ч с μ -агонистом DAMGO приводит не только к десенситизации MOR-рецепторов, но и повышению чувствительности этих клеток к действию налоксона [55]. В обычных условиях налоксон не влияет на синтез цАМФ в GH₃-MOR-клетках, то есть ведет себя как нейтральный антагонист [55]. Однако после хронического воздействия DAMGO на эти клетки добавление налоксона в среду инкубации (при условии удаления DAMGO) приводит к усилению синтеза цАМФ в 2 раза. Значит, в этом случае налоксон действует как обратный агонист [55]. Следует отметить, что усиление синтеза цАМФ в клетках мозга после отмены опиоидов связывают с возникновением абстинентного синдрома у животных и людей, зависимых к опиоидам [67, 68, 115]. Этот процесс усиливается под действием налоксона и налтрексона и называется “суперактивацией аденилатциклазы” [67, 68, 115]. Долгое время усиление абстинентного синдрома налоксоном и налтрексоном объясняли исключительно конкурентным связыванием антагонистов с OR, занятыми морфином или героином, но в 1994 г. Z. Wang и соавт. предположили, что у зависимых к опиоидам людей и животных налоксон и налтрексон могут действовать, как обратные агонисты, которые не только вытесняют морфин из оккупированных рецепторов, но и блокируют спонтанно активировавшиеся μ -OR [104]. До недавнего времени убедительных данных в пользу этой гипотезы не было. Более того, она противоречила результатом исследований T. Costa и A. Herz, которые показали, что налоксон является нейтральным антагонистом [30]. Подтверждение обратного агонизма налоксона удалось получить J. G. Liu и P. L. Prather на клетках GH₃-MOR [55]. Оказалось, что упомянутая способность налоксона стимулировать синтез цАМФ после хронического воздействия DAMGO исчезала, если в среду инкубации этих клеток добавляли RTX или нейтральный μ -антагонист СТАР, который сам не влиял на активность аденилатциклазы [55]. Следовательно, суперактивация аденилатциклазы налоксоном могла быть только результатом взаимодействия этого лиганда с μ -OR. Этими же авторами было показано, что хроническая экспозиция клеток GH₃-MOR вместе с DAMGO приводит к увеличению базального (после удаления DAMGO) связывания [³⁵S]ГТФ- γ -S, что может быть результатом спонтанной активации MOR-рецепторов (конформация R*1) [55]. В интактных клетках налоксон увеличивает связывание [³⁵S]ГТФ- γ -S на 10 %, а в GH₃-MOR, инкубированных 48 ч с морфином или DAMGO, налоксон снижает интенсивность этого процесса на 10 и 20 % соответственно. В первом

случае налоксон ведет себя как парциальный агонист μ -OR, во втором — как обратный агонист, поэтому некоторые авторы предложили называть его “Протей-антагонистом” по имени древнегреческого бога, меняющего свой облик [78, 110]. Указанный эффект налоксона не проявлялся в условиях блокады μ -OR нейтральным антагонистом СТАР, что говорит об участии μ -рецепторов во всех эффектах налоксона. Следовательно, в опытах на “зависимых клетках” налоксон ведет себя как обратный антагонист, усиливающий эффект отмены агониста. Оставалось выяснить: может ли этот антагонист проявлять аналогичные свойства *in vivo* на зависимых к опиоидам животных.

Выполняя эксперименты на морфин-зависимых мышях, D. Wang и соавт. подтвердили обратный агонизм налоксона и налтрексона [110]. Оказалось, что в гомогенате мозга интактных мышей налоксон и налтрексон достоверно, на 5 % усиливают связывание [³⁵S]ГТФ- γ -S с мембранами, то есть ведут себя как парциальные агонисты μ -рецепторов [110], что полностью совпадает с упомянутыми данными J. G. Liu и P. L. Prather [55]. Однако в гомогенате мозга зависимых мышей налоксон и налтрексон проявляют свойства обратных антагонистов, снижая связывание аналога ГТФ на 15–20 % соответственно [110] и тем самым подтверждая свое название “антагонистов, подобных Протею”. Наблюдая животных в динамике после отмены морфина, D. Wang и соавт. установили, что существует прямая зависимость между исчезновением симптомов отмены и ослаблением налоксон-индуцированного подавления связывания [³⁵S]ГТФ- γ -S [110]. Повторив эксперименты с нейтральными антагонистами (6 β -налтрексон, 6 β -налтрексол, 6 β -налоксол, 6 β -налтрексамин) они показали, что эти препараты не влияют на связывание аналога ГТФ, синтез цАМФ и не провоцируют появление синдрома отмены у зависимых мышей [109, 110].

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует о том, что спонтанная активация μ -рецепторов имеет место как *in vivo*, так *in vitro*. Этот процесс усиливается при формировании опиатной зависимости и имеет прямое отношение к синдрому отмены опиоидов. Вместе с тем некоторые вопросы остаются пока без ответа. Например, неясно: отличается ли спонтанно активировавшийся OR (R*1) от других рецепторов только конформацией или это фосфорилированная форма μ -OR [16, 19, 57, 105]? Вопрос представляется уместным, поскольку десенситизация μ -опиоидных рецепторов сопровождается их фосфорилированием и увеличением количества R*1 рецепторов [16, 19, 57, 105]. Возможно, что популяция R*1 μ -рецепторов у зависимых животных гетерогенная, часть из них фосфорилирована, а другая нет. Возможно, налоксон взаимодействует только с фосфорилированными R*1 μ -рецепторами, которые отсутствуют у

интактных особей. Однако эта гипотеза нуждается в экспериментальной проверке.

Следующим событием после активации μ -опиоидных рецепторов и G-белков является стимуляция эффекторов, одним из которых являются GIRK-каналы.

Взаимодействие μ -опиоидных рецепторов с GIRK-каналами (рис. 3). В 1959 г. А. Л. Hodgkin и Р. Horowicz предложили разделить все калиевые каналы на две группы: (1) потенциалзависимые K_v -каналы (от voltage dependent), они же — K^+ -каналы задержанного выпрямления (delayed inward rectifier); (2) K^+ -каналы внутреннего выпрямления или K_{ir} -каналы (от inward rectifier) [42]. K_v -каналы, благодаря присутствию в их молекулярной структуре потенциал-чувствительного S4-региона, способны чутко реагировать на изменение потенциала клетки [43, 51, 95]. Они активируются при деполяризации и обеспечивают реполяризацию, а после восстановления потенциала покоя закрываются [43, 51, 95]. Потенциал покоя поддерживается за счет тока ионов калия, который осуществляется K_{ir} -каналами (I_{K1} -ток) [43, 51, 95]. Этот ток “выключается” при деполяризации клетки и “включается” при восстановлении потенциала покоя, поэтому K_{ir} -каналы⁴ в какой-то мере тоже являются потенциал-зависимыми. Однако эта зависимость прямо противоположна той зависимости, которую проявляют K_v -каналы. Молекулярная структура K_{ir} -каналов идентифицирована, их подразделяют на семь субсемейств ($K_{ir}1.0$, $K_{ir}2.0$, $K_{ir}3.0$, $K_{ir}4.0$, $K_{ir}5.0$, $K_{ir}6.0$, $K_{ir}7.0$) [95]. Из этих каналов только два ($K_{ir}3.0$, $K_{ir}6.0$) регулируются опиоидными рецепторами [45, 82, 88, 95]. С первым из них ($K_{ir}3.0$) ОР взаимодействуют через G-белки, поэтому его чаще называют “GIRK-каналом” (от G-protein-coupled inwardly rectifying K^+ channel) или “ K_G -каналом” [46, 47, 82, 95, 97]. Второй ($K_{ir}6.0$) опиоидные рецепторы регулируют с помощью внутриклеточных мессенджеров и протеинкиназ [88]. Кроме того, $K_{ir}6.0$ -канал ингибируется АТФ, поэтому его чаще называют АТФ-чувствительным K^+ -каналом (K_{ATP} -каналом) [36, 37].

GIRK-каналы представлены во всех возбудимых клетках [46, 47, 82, 95]. Особенно высокой плотностью этих каналов отличаются нейроны и кардиомиоциты [46, 47, 56, 82, 95]. $K_{ir}3.0$ -канал является тетрамером, состоящим из четырех субъединиц ($K_{ir}3.1$, $K_{ir}3.2$, $K_{ir}3.3$, $K_{ir}3.4$) [51, 95]. Каждая из этих субъединиц имеет только один участок связывания с $\beta\gamma$ -субъединицей [51]. Активация GIRK-каналов приводит к гиперполяризации клеток и снижению их возбудимости [46, 47, 82, 95]. Усиление I_{K1} -тока в клетках миокарда вызывает снижение частоты сердечных сокращений [56, 95]. Активация K_G -каналов происходит после диссоциации G-протеинов и взаимодействия свободных $\beta\gamma$ -субъединиц с одной из субъединиц

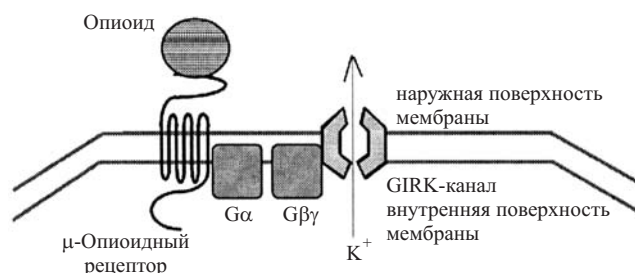


Рис. 3. Взаимодействие μ -опиоидного рецептора и GIRK-канала.

GIRK-канала [51]. Эти $\beta\gamma$ -субъединицы образуются при диссоциации РТХ-чувствительных G-белков, сопряженных с м-холинорецепторами, аденозиновыми рецепторами, опиоидными рецепторами [51, 95]. Первое сообщение о способности μ -ОР взаимодействовать с K^+ -каналами появилось в 1987 г. [69]. Используя селективный μ -агонист DAMGO и нейроны адренергического ядра *locus coeruleus*, R. A. North и соавт. обнаружили, что этот пептид активирует I_{K1} -ток и гиперполяризует мембраны нейронов [69]. Этот же коллектив исследователей показал, что в передаче сигнала принимают участия G-белки, но не протеинкиназы [69]. Следовательно, речь идет об активации μ -агонистом GIRK-каналов. Эти данные были подтверждены в более поздних работах, выполненных на нейронах парабрахияльных ядер мозга [24] и нейронах *locus coeruleus* [11, 62]. Способность селективных μ -агонистов вызывать гиперполяризацию за счет активации I_{K1} -тока была показана для клеток гиппокампа [112] и нейронов околосредоводного серого вещества [25]. Было установлено, что активация μ -ОР в ряде структур мозга приводит к торможению нейронов за счет усиления I_{K1} -тока и последующей гиперполяризации клеточной мембраны [112]. Однако было неясно: за счет активации каких K^+ -каналов происходит увеличение калиевой проводимости.

Установить это удалось Y. Chen и L. Yu, которые выполняли эксперименты на ооцитах лягушек *Xenopus laevis* [21]. Эти клетки удобны тем, что благодаря размерам и плотной оболочке, в них легко можно ввести микроэлектроды для регистрации потенциала действия и канюли для микроинъекций. В норме эти клетки не экспрессируют ОР и K_G -каналы [21]. Ооциты *Xenopus* были трансфецированы с помощью микроинъекции РНК, кодирующей структуру MOR-рецептора и GIRK-канала [21]. После этой процедуры клетки стали реагировать на селективный μ -агонист DAMGO появлением I_{K1} -тока [21]. Предварительная инкубация клеток с РТХ или налоксоном полностью устраняла этот эффект DAMGO, а микроинъекция стабильного аналога ГТФ ГТФ γ S, напротив, его усиливала [21]. Эти факты являются бесспорным доказательством того, что активация μ -ОР может сопровождаться открытием K_G -каналов. Кроме того, в ходе этих исследо-

⁴ K_{ir} -канал — канал, обеспечивающий калиевый ток внутренне-го выпрямления.

ваний были установлены и другие интересные факты [21]. Оказалось, что активатор протеинкиназы С форболовый эфир ингибирует μ -рецептор-зависимый I_{K1} -ток [21]. Стабильный аналог цАМФ 8-хлорофенилтио-цАМФ или микроинъекция каталитической субъединицы протеинкиназы А усиливает названный ток [21]. Авторы полагают, что протеинкиназы А и С фосфорилируют различные участки μ -ОР и GIRK-канала и подобное фосфорилирование приводит к усилению взаимодействия между μ -рецепторами и K_G -каналами или к ингибированию сопряжения μ -ОР и GIRK-канала [21]. Результаты этой работы были подтверждены в независимом исследовании, выполненном С. Ulens и соавт. на ооцитах, экспрессирующих MOR, DOR или KOR рецепторы [100]. Оказалось, что только DAMGO является истинным селективным агонистом μ -опиоидных рецепторов, он индуцировал K^+ -ток только в ооцитах, экспрессирующих MOR-рецептор, и не влиял на другие клетки [100]. Остальные “селективные” μ -агонисты морфин, фентанил и суфентанил активировали I_{K1} -ток во всех клетках, но наиболее выраженный эффект оказывали на ооциты, имеющие MOR-рецептор [100]. Сходные результаты были получены в других исследованиях, выполненных на трансфицированных ооцитах *Xenopus* [60] и на HEK293-MOR-клетках [7]. Все эти работы проводились *in vitro* на трансфицированных клетках, поэтому оставалось неясным, имеет ли место подобное взаимодействие *in vivo*.

В 2002 г. М. Torgrecilla и соавт. исследовали взаимодействие μ -опиоидных рецепторов и K_G -каналов на срезах *locus coeruleus*, выделенных у трансгенных мышей, лишенных одной или обеих субъединиц GIRK-канала (Kir3.2 и Kir3.3) [97]. Подобных животных с нарушенной экспрессией какого-либо гена обычно называют “нокаутированными”. GIRK-нокаутированные мыши часто погибают от судорог [91], у них отсутствует вагусная регуляция сердечного ритма [111]. У этих мышей потенциал покоя в нейронах *locus coeruleus* ниже нормы на 15 – 20 % [97], что, видимо, и объясняет склонность к судорожным припадкам. Опиоидный пептид мет-энкефалин вызывает у них гиперполяризацию нейронов, но этот показатель составляет 20 % от нормы у Kir3.2/Kir3.3-нокаутированных особей [97]. Оставшиеся 20 % гиперполяризующего тока, как полагают авторы, приходится на оставшиеся K_G -каналы, состоящие из Kir3.4-субъединиц [97]. У мышей, лишенных GIRK-каналов, снижено, но все же сохранено антиноцицептивное действие опиоидов, поэтому полагают, что антиноцицептивный эффект опиоидов лишь отчасти связан с активацией K_G -каналов [47].

μ -Опиоидные рецепторы регулируют $K_{ATФ}$ -каналы. Опиоиды могут модулировать не только K_G -каналы, но и влиять на активность других ионных каналов. Одним из таких каналов является $K_{ATФ}$ -канал

[23, 66, 70 – 72, 81, 88]. Ряд исследований, выполненных *in vivo*, свидетельствует, что $K_{ATФ}$ -каналы участвуют в морфин-индуцированной супраспинальной анальгезии [66, 70 – 72, 81]. Показано, что блокаторы $K_{ATФ}$ -каналов глибенкламид и гликвидон при интрацеребровентрикулярном введении устраняют антиноцицептивный эффект морфина, который вводили внутривенно [70 – 72, 81] или интрацеребровентрикулярно [66]. Полагают, что $K_{ATФ}$ -опосредованный обезболивающий эффект морфина связан с активацией μ -ОР, расположенных в антиноцицептивных центрах головного мозга [71]. В недавней работе Х. Chen и соавт., выполненной на изолированных нейронах амигдалы, показано, что μ -ОР в этих клетках взаимодействуют с $K_{ATФ}$ -каналами [23]. Известно, что эта структура головного мозга не участвует в регуляции болевой чувствительности. Все попытки обнаружить структуры головного мозга, в которых μ -рецепторы, регулирующие болевую чувствительность, сопряжены с Kir6.0-каналами, пока не привели к успеху [25]. Известны и внутриклеточные посредники, участвующие в передаче сигнала от μ -ОР к Kir6.0-каналу. В данном случае речь не может идти о прямом взаимодействии μ -рецептора и $K_{ATФ}$ -канала, поскольку μ -ОР и Kir6.0-каналы пространственно разобщены [36]. Вместе с тем важная роль $K_{ATФ}$ -каналов в супраспинальной опиоидной анальгезии в настоящее время считается доказанной [25, 66, 70 – 72, 79, 81]. Закрывая данный раздел, мы хотели бы обратить внимание читателя, что в литературе пока нет сведений о том, в каких нейронах находятся μ -рецептор-регулируемые Kir6.0-каналы. Наши предварительные данные говорят о том, что подобное взаимодействие между μ -ОР и $K_{ATФ}$ -каналами может иметь место не только на уровне головного мозга, но и в миокарде [2, 3].

Интеграция μ -опиоидных рецепторов и K_v -каналов⁵ была обнаружена в 1997 г. Изучая механизм опиоидной регуляции освобождения ГАМК в пресинаптических терминалах околосинаптического вещества головного мозга, австралийские исследователи выяснили, что активация пресинаптических μ -ОР в ГАМК-ергических нейронах приводит к уменьшению выброса этого тормозного медиатора [101, 102]. Этот эффект связан с μ -ОР-опосредованной гиперполяризацией пресинаптических мембран ГАМК-ергических нейронов [101, 102]. Гиперполяризация не регистрируется в условиях блокады K_v -каналов 4-аминопиридином или дендротоксином [101, 102]. Авторы попытались определить, как передается сигнал от μ -рецептора к K_v -каналу [102]. Выяснилось, что оккупация μ -ОР агонистами приводит к активации 12-липноксигеназы, которая обеспечивает синтез из арахидоновой кислоты 12-гидроксисейкозатетраеновой кислоты

⁵ K_v -канал – потенциалзависимый K^+ -канал

[102]. Последняя выступает в роли внутриклеточного посредника, который открывает K_v -каналы [102].

Однако агонисты μ -ОР могут не только активировать, но и ингибировать потенциалзависимые K^+ -каналы. Известно, что последние обеспечивают K^+ -ток задержанного выпрямления (I_k) двух типов: I_{kr} (от rapid) и I_{ks} (от slow) [85]. Первый (I_{kr}) активируется вскоре после деполяризации независимо от исходного состояния клетки [85]. Вторым (I_{ks}) активируется только после высокочастотной стимуляции возбудимой ткани или после воздействия на клетки β -адреномиметиков, поэтому его называют медленным (slow) [85]. Выполняя эксперименты на срезах ядер лицевого нерва мозга крыс, Y. Kumazawa и соавт. [50] обнаружили, что активация μ -ОР в мотонейронах этих ядер приводит к избирательному ингибированию I_{ks} -тока. Такое угнетение I_{ks} -тока приводило к значительному удлинению потенциала действия в мотонейронах [50]. Условия эксперимента были таковы, что авторы исключают участие в этом процессе каких-либо нейромедиаторов, кроме добавленных в среду инкубации опиоидов [50]. Используя селективные агонисты и антагонисты опиоидных рецепторов, авторам удалось доказать, что в опиоидном ингибировании I_{ks} -тока принимают участие μ -ОР [50]. Вместе с тем некоторые факты позволяют усомниться в том, что речь идет об обычном μ -ОР. Так, например, IC_{50} для DAMGO в этих экспериментах составляла около 5 мкМ [50], а IC_{50} в тестах на ингибирование аденилатциклазы для DAMGO колеблется от 6 до 21 нМ [34, 59]. Супрессия I_{ks} -тока достигала максимума через 2 мин инкубации, что может служить косвенным признаком участия внутриклеточных сигнальных систем в реализации этого процесса [50]. Однако внутриклеточные мессенджеры, участвующие в μ -ОР-опосредованной супрессии K_v -каналов, остаются пока неизвестными.

μ -Опиоидные рецепторы модулируют Ca^{2+} -каналы. Калиевые каналы не являются единственными ионными каналами, которые регулируются μ -опиоидными рецепторами. Кальциевый канал также является одним из эффекторов μ -рецептора [28, 39, 40, 47, 48, 64, 86, 89, 99, 101]. Первое сообщение о том, что опиоиды могут ингибировать Ca^{2+} -каналы в клетках нейробластомы NG108 – 15 было опубликовано в 1986 г. [99]. Однако в качестве агонистов ОР использовали энкефалины, которые активируют μ - и δ -ОР, поэтому было неясно, с активацией какого из названных рецепторов связано угнетение кальциевого тока в NG108 – 15-клетках [99]. Четырьмя годами позже британские исследователи сообщили, что стимуляция μ -ОР в клетках линии SH-SY5Y приводит к блокаде кальциевых каналов N-типа [39, 89]. Эти данные были подтверждены в независимых исследованиях, выполненных на клетках нейробластомы NG108-15 и NGMO-251 [40, 61, 64]. С помощью трансфекции исследователям удалось добиться избыточной экспрес-

сии этими клетками MOR-рецептора, что дало возможность многократно усилить ответ клетки на оккупацию μ -ОР [40, 61, 64]. Оказалось, что только селективные агонисты μ -рецепторов способны ингибировать кальциевый ток (I_{Ca} -ток) в названных клетках [40, 61, 64]. В условиях блокады Ca^{2+} -каналов N-типа ω -коннотоксином селективные μ -агонисты утрачивали способность ингибировать I_{Ca} -ток в NG108-15-клетках, поэтому авторы сделали вывод, что речь идет об опиоидном ингибировании Ca^{2+} -каналов N-типа [64]. Подобное ингибирование не регистрировалось в условиях предварительной обработки клеток пертуссис токсином или N- метилмалеимидом, который ингибирует G-белки [40, 61]. Установлено, что опиоидное ингибирование I_{Ca} -тока связано с активацией ОР и сопряженных с ними РТХ-чувствительных G_o -белков [63]. Согласно литературным данным, взаимодействие $\beta\gamma$ -субъединицы $G_{i/o}$ -белков с Ca^{2+} -каналами приводит к уменьшению I_{Ca} -тока [38, 45]. Очевидно, что в случае μ -опиоидных рецепторов в качестве ингибирующих посредников выступают именно $\beta\gamma$ -субъединицы.

Вышеперечисленные работы были выполнены на культурах низкодифференцированных клеток, поэтому было неясно: имеет ли место подобное взаимодействие между μ -опиоидными рецепторами и Ca^{2+} -каналами *in vivo*. Первые доказательства существования такой интеграции были получены в 1999 г. М. Connog и соавт. в экспериментах, выполненных на нейронах, изолированных из околосинаптического вещества головного мозга интактных мышей и MOR-1-рецептор-нокаутированных животных [28]. Оказалось, что только μ -агонисты ингибируют I_{Ca} -ток в нейронах интактных особей, а селективные агонисты δ - и κ -ОР в этом отношении оказались абсолютно неэффективными [28]. Супрессирующий эффект μ -агонистов не проявлялся в условиях блокады μ -ОР [28]. Интересно отметить, что нейроны, выделенные из мозга MOR-нокаутированных мышей, были толерантны к действию μ -агонистов [28]. Сопоставив эти факты, авторы работы пришли к заключению, что активация μ -ОР в клетках околосинаптического вещества приводит к угнетению I_{Ca} -тока в этих клетках [28]. Известно, что это ядро головного мозга имеет прямое отношение к антиноцицептивному действию μ -агонистов. Следовательно, можно предположить, что опиоидное ингибирование I_{Ca} -тока и вышеупомянутая μ -ОР-опосредованная гиперполяризация нейронов этого ядра имеет прямое отношение к обезболивающему действию агонистов μ -ОР.

Выше речь шла о взаимодействии μ -ОР с Ca^{2+} -каналами N-типа, однако существуют данные о взаимодействии μ -ОР и Ca^{2+} -каналов L-типа [76, 77] и P/Q-типа [80]. В 1995 г. E. T. Piro и соавт., выполняя эксперименты на клонированных μ -ОР, обнаружили, что в трансфицированных клетках линии GH₃MOR они со-

пряжены с Ca^{2+} -каналами L-типа [76]. Активация MOR-рецепторов в этих клетках ведет к угнетению I_{Ca} -тока [76]. Аналогичные данные были получены в более поздней работе тех же авторов [76]. Подобное μ -ОР- зависимое ингибирование Ca^{2+} -каналов L-типа происходит далеко не во всех клетках. Работая с изолированными нейронами из *n. tractus solitarius* крысы Н. Rhim и R. J. Miller обнаружили, что DAMGO ингибирует в этих клетках Ca^{2+} -каналы N-типа и P/Q-типа, но не влияет на каналы L-типа [80].

В настоящее время определение I_{Ca} -тока является стандартным количественным методом оценки клеточного ответа на активацию μ -опиоидных рецепторов [12, 26, 97]. Появились первые работы, посвященные вопросам регуляции взаимодействия μ -ОР и Ca^{2+} -каналов [26]. В ходе одной из них, выполненной на нейронах околводопроводного вещества, было показано, что активация протеинкиназы С в этих клетках сопровождается ослаблением μ -рецептор-опосредованного угнетения I_{Ca} -тока [26]. Аналогичные данные, как мы уже отмечали выше, были получены для протеинкиназы С, μ -ОР и K_G -каналов [21].

Вместе с тем стимуляция μ -ОР приводит к угнетению Ca^{2+} -тока далеко не во всех клетках. Более того, есть работы в которых было показано увеличение I_{Ca} -тока и усиление поступления кальция в клетку из внеклеточной среды в ответ на активацию μ -ОР [48, 86, 93]. В экспериментах на дофаминергических клетках SK-N-SH нейробластомы установлено, что селективная стимуляция μ -ОР приводит к освобождению дофамина из этих клеток и увеличению концентрации Ca^{2+} в цитоплазме [48, 86]. Этот эффект исчезал после блокады Ca^{2+} -каналов N-типа ω -коннотоксином, но сохранялся в условиях ингибирования Ca^{2+} -каналов L-типа никардипином [48, 86]. Сопоставление этих фактов позволило авторам сделать вывод о том, что стимуляция μ -рецепторов в клетках SK-N-SH приводит к активации в этих нейробластах Ca^{2+} -каналов N-типа с последующим выбросом в среду инкубации дофамина [48, 86]. Этот эффект μ -агонистов сохранялся после обработки клеток РТХ [48]. Казалось бы, результаты этих исследований [48, 86] находятся в полном противоречии с вышеупомянутыми данными о том, что активация μ -ОР в клетках NG108-15 и SH-SY5Y приводит к ингибированию Ca^{2+} -каналов N-типа [39, 64]. В действительности они лишь служат яркой иллюстрацией нашего утверждения о том, что реакция клетки на активацию μ -опиоидных рецепторов зависит от того, какие G-белки и эффекторы она экспрессирует. В клетках NG108-15 ингибирующий эффект μ -агонистов связан с активацией РТХ-чувствительных G-белков (G_i и G_o), а в клетках SK-N-SH-линии стимулирующее действие агонистов μ -ОР осуществляется при посредничестве РТХ-нечувствительных G-протеинов, например, G_z .

Таким образом, показано, что активация μ -ОР сопровождается угнетением Ca^{2+} -каналов N-типа при посредничестве РТХ-чувствительных G_o -белков в клетках нейронального происхождения. Единственным исключением из правила являются клетки SK-N-SH, которые реагируют на оккупацию μ -ОР открытием Ca^{2+} -каналов N-типа. Вместе с тем мы хотели бы обратить внимание читателя, что в литературе пока нет данных о том, что μ -агонисты могут модулировать кальциевые каналы R и T-типа. Как впрочем и нет данных о взаимодействии μ -ОР и Ca^{2+} -каналов в периферических органах и тканях. Заключая обсуждение данных, представленных в обзоре, мы хотели бы акцентировать внимание читателя на том, что вышеперечисленные K^+ - и Ca^{2+} -каналы не являются единственными ионными каналами, активность которых модулируется μ -опиоидными рецепторами. В литературе есть данные о том, что μ -агонисты примерно в 50 % нейронов *locus coeruleus* могут супрессировать потенциал-независимый катион-селективный ионный ток, который активируется внутриклеточным Na^+ и цАМФ [4, 5, 6]. Природа этого ионного тока до сих пор не установлена.

Работая над обзором, мы исключили из обсуждения литературные данные, посвященные взаимодействию μ -опиоидных рецепторов с β -аррестинном, аденилатциклазой, фосфолипазами, митоген-активируемыми протеинкиназами, NO-синтазой и гуанилатциклазой. Такой подход позволил нам детально проинформировать читателя о работах, связанных с изучением взаимодействия μ -рецепторов с G-белками и различными ионными каналами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ. Авторы выражают признательность Т. В. Ласуковой и Н. А. Данильченко за помощь в подготовке рукописи обзора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. О. Брагин, В. В. Яснецов, *Итоги науки и техники ВИНТИ-ТИ: Сер. физиология человека и животных*, ВИНТИ, Москва (1991), с. 47.
2. Л. Н. Маслов, Т. В. Ласукова, Н. В. Соленкова, и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(5), 23 – 27 (2001).
3. Л. Н. Маслов, А. В. Крылатов, Н. В. Нарыжная, и др., *Рос. физиол. ж.*, **88** (7), 842 – 850 (2002).
4. M. Alreja and G. Aghajanian, *J. Neurosci.*, **13**, 3525 – 3532 (1993).
5. M. Alreja and G. Aghajanian, *Brain Res.*, **639**, 320 – 324 (1994).
6. M. Alreja and G. Aghajanian, *J. Neurosci. Methods*, **59**, 67 – 75 (1995).
7. V. A. Alvarez, S. Arttamangkul, V. Dang, et al., *J. Neurosci.*, **22**(13), 5769 – 5776 (2002).
8. M. M. Belcheva, Z. Vogel, E. Ignatova, et al., *J. Neurochem.*, **70**, 635 – 645 (1998).
9. M. M. Belcheva, Y. H. Wong, and C. J. Coscia, *Cell. Signal.*, **12**, 481 – 489 (2000).
10. M. M. Belcheva, M. Szucs, D. Wang, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**, 33847 – 33853 (2001).

11. C. Blanchet and C. Luscher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**(7), 4674 – 4679 (2002).
12. S. L. Borgland, M. Connor, P. B. Osborne, et al., *J. Biol. Chem.*, **278**(21), 18776 – 18784 (2003).
13. M. Bunemann, M. Frank, and M. J. Lohse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**(26), 16077 – 16082 (2003).
14. N. Burford, D. X. Wang, and W. Sadee, *Biochem. J.*, **348**, 531 – 537 (2000).
15. B. D. Carter and F. Medzihradsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 4062 – 4066 (1993).
16. J. P. Celver, J. Lowe, A. Kovoov, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**(7), 4894 – 4900 (2001).
17. E. Chalecka-Franaszek, H. B. Weems, A. T. Crowder, et al., *J. Neuropharmacol.*, **74**, 1068 – 1078 (2000).
18. J. S. Chan, T. T. Chiu, and Y. H. Wong, *J. Neurochem.*, **65**(6), 2682 – 2689 (1995).
19. C. Chavkin, J. P. McLaughlin, and J. P. Celver, *Mol. Pharmacol.*, **60**(1), 20 – 25 (2001).
20. Y. Chen, A. Mestek, J. Liu, et al., *Mol. Pharmacol.*, **44**, 8 – 12 (1993).
21. Y. Chen and L. Yu, *J. Biol. Chem.*, **269**, 7839 – 7842 (1994).
22. C. Chen, V. Shahabi, W. Xu, and L. Y. Liu-Chen, *FEBS Lett.*, **441**(1), 148 – 152 (1998).
23. X. Chen, H. G. Marrero, and J. E. Freedman, *J. Neurosci.*, **21**(23), 9092 – 9100 (2001).
24. M. J. Christie and R. A. North, *Br. J. Pharmacol.*, **95** (3), 896 – 902 (1988).
25. L.-C. Chiou and C.-H. How, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **298**(2), 493 – 500 (2001).
26. Y.-W. Cho, S.-H. Han B.-I. Min, et al., *Brain Res.*, **916**, 61 – 69 (2001).
27. D. E. Clapham and E. J. Neer, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **37**, 167 – 203 (1997).
28. M. Connor, A. Schuller, J. E. Pintar, and M. J. Christie, *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 1553 – 1558 (1999).
29. M. Connor and M. D. Christie, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **26**(7), 493 – 499 (1999).
30. T. Costa and A. Herz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 7321 – 7325 (1989).
31. R. A. Cruciani, B. Dvorkin, S. A. Morris, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 3019 – 3023 (1993).
32. K. Fukuda, S. Kato, K. Mori, et al., *FEBS Lett.*, **327**, 311 – 314 (1993).
33. N. Gautam, G. B. Downes, K. Yan, and O. Kisselev, *Cell. Signal.*, **10**(7), 447 – 455 (1998).
34. S. R. George, T. Fan, Z. Xie, et al. *J. Biol. Chem.*, **275**(34), 26128 – 26135 (2000).
35. A. G. Gilman, *Annu. Rev. Biochem.*, **56**, 615 – 649 (1987).
36. G. J. Gross and R. M. Fryer, *Circ. Res.*, **84**, 973 – 979 (1999).
37. G. J. Gross, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **35**(9), 1005 – 1007 (2003).
38. S. Herlitze, D. E. Garcia, K. Mackie, et al., *Nature*, **380**, 258 – 268 (1996).
39. G. Henderson and E. P. Seward, *J. Physiol.*, **422**, 19 (1990).
40. H. Higashida, N. Hoshi, R. Nijink, et al., *J. Physiol.*, **507**, 71 – 75 (1998).
41. M. K. Ho, D. C. New, and Y. H. Wong, *Neurosignals*, **11**(2), 115 – 122 (2002).
42. A. L. Hodgkin and P. Horowitz, *J. Physiol.* **148**, 127 – 160 (1959).
43. L. M. Hondeghem, *Antiarrhythmic Drugs. Mechanisms of Antiarrhythmic and Proarrhythmic Actions*. Eds. G. Breithardt, M. Borggrefe, A. J. Camm, M. Shenasa, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 92 – 105 (1995).
44. K. Hosohata, T. H. Burkey, J. Alfaro-Lopez, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **380**(1), R9 – 10 (1999).
45. S. R. Ikeda, *Nature*, **380**, 255 – 258 (1996).
46. K. Ikeda, T. Kobayashi, T. Kumanishi, et al., *Neurosci. Res.*, **38**(1), 113 – 116 (2000).
47. K. Ikeda, T. Kobayashi, T. Kumanishi, et al., *Neurosci. Res.*, **44**(2), 121 – 131 (2002).
48. O. Keren, M. Gafni, and Y. Sarne, *Brain Res.*, **764**, 277 – 282 (1997).
49. G. Koski and W. A. Klee, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**(7), 4185 – 4189 (1981).
50. Y. Kumazawa, Y. Nishimura, T. Akamine, et al., *Neurosci. Res.*, **47**(3), 329 – 339 (2003).
51. Y. Kurachi and M. Ishi, *J. Physiol.*, **554**, 285 – 294 (2003).
52. J. W. Lee, S. Joshi, J. S. Chan, and Y. H. Wong, *J. Neurochem.*, **70**(5), 2203 – 2211 (1998).
53. B. A. Levac, B. F. O'Dowd, and S. R. George, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **2**(1), 76 – 81 (2002).
54. J. G. Liu, M. B. Ruckle, and P. L. Prather, *J. Biol. Chem.*, **276**(41), 37779 – 37786 (2001).
55. J. G. Liu and P. L. Prather, *Mol. Pharmacol.*, **60**(1), 53 – 62 (2001).
56. D. E. Logothetis, Y. Kurachi, J. Galper, et al., *Nature*, **325**, 321 – 326 (1987).
57. J. D. Lowe, J. P. Celver, V. V. Gurevich, and C. Chavkin, *J. Biol. Chem.*, **277**(18), 15729 – 15735 (2002).
58. G. Mace, M. Jaume, C. Blanpied, et al., *Blood*, **100**(9), 3261 – 3268 (2002).
59. N. A. Martin and P. L. Prather, *Mol. Pharmacol.*, **59**(4), 774 – 783 (2001).
60. J. P. McLaughlin and C. Chavkin, *Mol. Pharmacol.*, **59**(6), 1360 – 1368 (2001).
61. H. Mima, H. Morikawa, K. Fukuda, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **340**, R1 – R2 (1997).
62. M. Miyake, M. J. Christie, and R. A. North, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**(9), 3419 – 3422 (1989).
63. H. C. Moises K. I. Rusin, and R. L. MacDonald, *J. Neurosci.*, **14**, 3842 – 3851 (1994).
64. H. Morikawa, K. Fukuda, S. Kato, et al., *J. Neurochem.*, **65**, 1403 – 1406 (1995).
65. J. Moss and M. Vaughan, *Adv. Enzymol.*, **61**, 303 – 378 (1988).
66. M. Narita, T. Suzuki, M. Misawa, et al., *Brain Res.*, **596**, 209 – 214 (1992).
67. E. J. Nestler, B. T. Hope, and K. L. Widnell, *Neuron*, **11**, 985 – 1006 (1993).
68. E. J. Nestler and G. K. Aghajanian, *Science*, **278**, 58 – 63 (1997).
69. R. A. North, J. T. Williams, A. Surprenant, and M. J. Christie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 5487 – 5491 (1987).
70. M. Ocana, E. Del Pozo, M. Barrios, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **186**, 377 – 378 (1990).
71. M. Ocana, E. Del Pozo, and J. M. Bayens, *Eur. J. Pharmacol.*, **230**, 203 – 207 (1993).
72. M. Ocana, E. Del Pozo, M. Barrios, and J. M. Baeyens, *Br. J. Pharmacol.*, **114**, 1296 – 1302 (1995).
73. Y. X. Pan, J. Xu, L. Mahurter, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(24), 14084 – 14089 (2001).
74. Y. X. Pan, J. Xu, L. Mahurter, M. Xu, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **301**(4), 1057 – 1061 (2003).
75. G. W. Pasternak, *Neuroscientist*, **7**(3), 220 – 231 (2001).
76. E. T. Pirots, P. L. Prather, H. H. Loh, et al., *Mol. Pharmacol.*, **47**(5), 1041 – 1049 (1995).
77. E. T. Pirots, P. L. Prather, P. Y. Law, et al., *Mol. Pharmacol.*, **50**(4), 947 – 956 (1996).
78. P. L. Prather, *Science's STKE*, **215**, pe1 (2004).
79. R. B. Raffa and R. P. Martinez, *Brain Res.*, **677**, 277 – 282 (1995).
80. H. Rhim and R. J. Miller, *J. Neurosci.*, **14**, 7608 – 7615 (1994).
81. D. S. Roane and N. E. Boyd, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **46**, 205 – 207 (1993).

82. V. Ruiz-Velasco and S. R. Ikeda, *J. Physiol.*, **513**(Pt. 3): 761 – 773 (1998).
83. P. Sanchez-Blazquez, M. Rodriguez-Diaz, I. DeAntonio, and J. Garzon, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **291**(1): 12 – 18 (1999).
84. P. Sanchez-Blazquez, P. Gomez-Serranillos, and J. Garzon, *Brain Res. Bull.*, **54**(2), 229 – 235 (2001).
85. M. C. Sanguinetti, N. K. Jurkiewicz, and P. K. S. Siegel, *Circ. Res.*, **68**, 77 – 84 (1991).
86. Y. Sarne, A. Fields, O. Keren, and M. Gafni, *Neurochem. Res.*, **21**(11), 1353 – 1361 (1996).
87. T. Schoneberg A. Schulz, and T. Gudermann, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **144**, 143 – 227 (2002).
88. J. E. J. Schultz, A. K. Hsu, H. Nagase, and G. J. Gross, *Am. J. Physiol.*, **274**, H909 – H914 (1998).
89. E. Seward, C. Hammond, and G. Henderson, *Proc. R. Soc. Lond. (B)*, **244**, 129 – 135 (1991).
90. J. Shen, S. Shah, H. Hsu, and B. C. Yoburn, *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **59**(2), 247 – 255 (1998).
91. S. Signorini, Y. J. Liao, S. A. Duncan, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 923 – 927 (1997).
92. R. M. Silva, G. C. Rossi, J. P. Mathis, et al., *Brain Res.*, **876**, 62 – 76 (2000).
93. D. Smart, R. A. Hirst, K. Hirota, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **120**, 1165 – 1171 (1997).
94. S. F. Steinberg and L. L. Brunton, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **41**, 751 – 773 (2001).
95. P. R. Stanfield, S. Nakajima, and Y. Nakajima, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **145**, 47 – 179 (2002).
96. R. C. Tompson, A. Mansour, H. Akil, and S. J. Watson, *Neuron*, **11**, 903 – 913 (1993).
97. M. Torrecilla, C. L. Marker, S. C. Cintora, et al., *J. Neurosci.*, **22**(11), 4328 – 4334 (2002).
98. R. C. Tsu and Y. H. Wong, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **295**, 168 – 176 (2000).
99. A. Tsunoo, T. Yoshii, and T. Narashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 9832 – 9836 (1986).
100. C. Ulens, M. Van Boven, P. Daenens, and J. Tytgat, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **294**(3), 1024 – 1033 (2000).
101. C. W. Vaughan and M. J. Christie, *J. Physiol.*, **498**(Pt. 2), 463 – 472 (1997).
102. C. W. Vaughan, S. L. Ingram, M. A. Connor, and M. J. Christie, *Nature*, **390**(6660), 611 – 614 (1997).
103. J. B. Wang, Y. Imai, C. M. Eppler, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 10230 – 10234 (1993).
104. Z. Wang, E. J. Bilsky, and W. Sadee, *Life Sci.*, **54**, PL339 – PL350 (1994).
105. Z. Wang, J. Arden, and W. Sadee, *FEBS Lett.*, **387**, 53 – 57 (1996).
106. L. Wang and A. R. Gintzler, *J. Neurochem.*, **68**, 248 – 254 (1997).
107. D. X. Wang, C. K. Surratt, and W. Sadee, *J. Neurochem.*, **75**, 763 – 771 (2000).
108. D. Wang, J. M. Quillan, K. Winans, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**(37), 34624 – 34630 (2001a).
109. D. Wang, K. M. Rachal, E. J. Bilsky, and W. Sadee, *J. Neurochem.*, **77**, 1590 – 1600 (2001b).
110. D. Wang, K. M. Rachal, E. T. Lin, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **308**(2), 512 – 520 (2004).
111. K. Wickman, J. Nemecek, S. J. Gendler, and D. E. Clapham, *Neuron*, **20**, 103 – 114 (1998).
112. T. Wimpey and C. Chavkin, *Neuron*, **6**, 281 – 289 (1991).
113. H. Xu, Y.-F. Lu, K. C. Rice, et al., *Brain Res. Bull.*, **55**(4), 507 – 511 (2001).
114. B. C. Yoburn, B. A. Gomes, V. Rajashekara, et al., *Synapse*, **47**(2), 109 – 116 (2003).
115. V. C. Yu, D. Eigers, D. S. Duan, et al., *J. Neurochem.*, **55**, 1390 – 1396 (1990).

Поступила 26.07.04

THE INTERACTION OF μ -OPIOID RECEPTORS WITH ION CHANNELS AND G-PROTEINS

Yu. B. Lishmanov¹, L. N. Maslov^{1,2}, and N. V. Solenkova²

¹ Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Kievskaya 111, Tomsk, 634050 Russia

² Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, 634050 Russia;

The state-of-the-art in investigations of the μ -opioid receptors (ORs) is reviewed. Published information on the interaction between μ -ORs and various G-proteins is summarized and data on the neutral antagonists and inverse agonists of μ -opioid receptor are generalized. The notions about the spontaneous activation of μ -ORs are considered and numerous reports on the interaction between μ -ORs and GIRK, KATP, and K_v channels are analyzed. The role of L, N, and P/Q types of Ca²⁺-channels in μ -OR-mediated intracellular signaling is discussed.