

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ОПИОИДНЫЙ КАППА-РЕЦЕПТОР: МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

А. А. Спасов^{1,2}, О. Ю. Гречко¹, Д. М. Штарёва¹

Приведены данные о том, что каппа-опиоидные рецепторы имеют сложную структуру. Эти рецепторы могут играть важную роль в разных процессах, осуществляемых в центральной нервной системе.

Ключевые слова: каппа-опиоидные рецепторы; ЦНС.

Опиоидная рецепторная система состоит из 4 типов гетерогенных G-белок-сопряженных (G-protein coupled receptor, GPCR) мю-, дельта-, каппа-, ORL₁ (opioid receptor like, опиоидоподобный рецептор) рецепторов, которые фармакологически охарактеризованы, клонированы, различаются первичной структурой, анатомическим распределением, профилем фармакологической активности, физиологическими функциями [1, 6, 33]. Из всех подтипов опиоидных рецепторов именно субпопуляция каппа-рецепторов представляет собой одну из наиболее привлекательных мишеней для создания принципиально новых оригинальных препаратов с благоприятным профилем безопасности [8, 22, 51].

Молекулярная структура каппа-опиоидного рецептора

Каппа-рецепторный белок принадлежит к А классу суперсемейства метаболитных GPCR [50, 57], состоит из 380 аминокислотных остатков, 7 гидрофобных α -спиралей, интегрированных в клеточную мембрану, а также N-гликозилированного и C-пальмитированного концевых фрагментов (рис. 1).

Полагают, что вторая и третья внеклеточные петли, а также верхушка 4 трансмембранного домена являются ключевыми фрагментами для высокоселективного связывания рецептора с лигандами [27]. Изучение химерных структур показало, что вторая внеклеточная петля необходима для проявления активности диноρφина [17]. Каппа-белок содержит остаток глутамина Glu²⁹⁷ на третьей внеклеточной петле, который является его “адресным” фрагментом для высокоаффинного связывания с пог-BN1 (нор-биналторфимином). Внутриклеточная часть рецептора содержит 2 остатка тирозина Tyr⁸⁷ и Tyr¹⁵⁷, являющихся мишенями для фосфорилирования тирозин-киназой. Фосфорилирование этих остатков может оказывать различные эффекты на

ГТФ-зависимое связывание G-протеинов и модулировать сигнальную эффективность каппа-рецепторов [25]. Другим важным участком фосфорилирования является остаток серина Ser³⁶⁹ на C-терминали [29].

Локализация и функции каппа-опиоидных рецепторов

Каппа-опиоидные рецепторы представлены как в ЦНС [8, 56], так и на периферии [23], специфически активируются эндогенными лигандами – продуктами метаболизма продинорфина [3, 62]. Высокий уровень каппа-рецепторов экспрессируется в вегетативных центрах головного, спинного мозга, структурах, ответственных за восприятие ноцицептивной информации [22, 56], когнитивные функции, эмоциональное поведение, сознание [2, 6], а также в ганглиях тройничного нерва, задних корешков спинного мозга, клеточных телах тонких миелинизированных и немиелинизированных ноцицептивных афферентов [35, 44], терминалях сенсорных нейронов кожи, мышц, суставах, внутренних органах, лимфоцитах, лейкоцитах, кардиомиоцитах [19, 43, 62] (таблица).

Каппа-опиоидная система вовлекается в многочисленные физиологические процессы, включая анальгезию, регуляцию нейроэндокринной секреции, водного баланса, питьевого и пищевого поведения, вегетативных функций, механизмов обучения, памяти [9]. В литературе имеются сведения о многочисленных эффектах лигандов опиоидных каппа-рецепторов — антиаддиктивном, антиноцицептивном, диуретическом, антипсихотическом, противосудорожном, анксиолитическом, нейропротекторном, антидепрессивном, противовоспалительном, кардиопротекторном [9, 24, 56, 62]. Активация каппа-рецепторов селективными агонистами модулирует иммунный статус организма, подавляет экспрессию ВИЧ-1 [35]. Все это предлагает новые возможности для разработки оригинальных препаратов с различным профилем фармакологической активности.

Гетерогенность каппа-опиоидных рецепторов

Вскоре после того, как фармакологически были описаны опиоидные каппа-рецепторы, начали появ-

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, 400131, пл. Павших Борцов, 1.

² Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, 400131, пл. Павших Борцов, 1.

латься сообщения о гетерогенности рецепторных макромолекул [28]. На сегодняшний день ситуация, касающаяся различных подтипов опиоидных каппа-рецепторов, представляется достаточно сложной и запутанной. Несмотря на отсутствие различий на молекулярном уровне, данные фармакологических тестов, исследований по радиолигандному связыванию, а также особенности анатомического распределения свидетельствуют о существовании κ_1 -, κ_2 - и κ_3 -рецепторов. Вместе с тем молекулярная характеристика κ_2 -, κ_3 -подтипов до сих пор остается невыясненной, поскольку клонирована единственная сДНК, кодирующая структуру κ_1 -рецептора (KOR₁) человека [44] и грызунов [58], и принадлежность рецепторов к различным подтипам определяется с учетом их селективности к специфическим лигандам. Так, κ -опиоидные агонисты арилацетамидной природы U-50,488, U-69,593, CI-977, ICI-199,441, R-84670 и κ -антагонист пог-BN1 проявляют высокую селективность действия и аффинитет к κ_1 -подтипу, производные бензоморфанов — этилкетоциклозацин, бремасоцин связываются с высоким сродством с κ_2 -рецепторами [20, 42]. В результате высокоаффинного лиганд-рецепторного взаимодействия с ³H-налоксон-бензоилгидразоном (³H-NaVzoH) был предложен κ_3 -подтип, однако вскоре выяснилось, что типичный κ_3 -агонист также связывается с μ -, κ_1 -, δ - и ORL₁-рецепторами и может действовать как функциональный агонист или антагонист для всех или большинства из них. Последние достижения в области молекулярной биологии опиоидных рецепторов и синтез ряда новых селективных лигандов для сайтов связывания каппа-подтипов рецепторных макромолекул позволяют несколько расширить представления о существовании различных субпопуляций каппа-рецепторов. Так, при использовании меченного ¹²⁵I лиганда H-NaVzoH, было обнаружено высокое сродство к κ_3 -рецептору у мышей с дефектом генов MOR₁/DOR₁/KOR₁ (принятые обозначения для клонированных μ -, δ - и каппа-рецепторов в соответствии с номенклатурой IUPHAR). Данные факты противоречат ранее представленным результатам ауторадиографических исследований, в которых не был установлен аффинитет ³H-NaVzoH к κ_3 -подтипу в таком же тесте у мышей [12]. Однако неспособность идентифицировать κ_3 -рецепторные сайты, возможно, связана с ограниченной чувствительностью сайта связывания κ_3 -рецептора к каппа-агонистам, меченным тритием, в отличие от лигандов, меченных ¹²⁵I [33]. В 1994 г. сообщили об идентификации гена, кодирующего KOR₃ “ κ_3 -related gene”, который был клонирован и экспрессирован в культуре клеток нейробластомы SH-SY5Y [31, 32]. Позже выяснилось, что он оказался гомологом гена NOP-рецептора человека [12, 31]. Прошло более 15 лет с начала попыток клонирования генов, кодирующих структуру κ_2 - или κ_3 -рецепторов. И хотя

результаты исследований по молекулярному клонированию не могут служить основанием (так как клонирован только один подтип каппа-рецептора — κ_1) для доказательства гетерогенности каппа-рецепторов, многочисленные каппа-агонисты и антагонисты имеют различные профили связывания с каппа-рецепторными макромолекулами. Интересной представляется информация о возможности альтернативного сплайсинга KOR₁, а также различной чувствительности κ_1 -агонистов к антисенсам (антисмысловые олигонуклеотиды, подавляющие экспрессию гена-мишени в результате комплементарного взаимодействия с участком мРНК гена-мишени, образования дуплекса, являющегося субстратом РНКазы H, которая его разрушает и тем самым снижает уровень мРНК гена-мишени), комплементарным мРНК KOR₁ [32]. Установлено, ген KOR₁ мыши генерирует 6 зрелых изоформ мРНК с одинаковой кодирующей областью в окружении различных комбинаций 5'- и 3'-нетранслируемых областей (рис. 2), что демонстрирует потенциал для альтернативного сплайсинга, кодирующего близкие, но отличные по структуре κ -рецепторы.

В последние годы накоплен большой фактический материал, свидетельствующий о существовании κ -G-белок-сопряженных кластеров в виде гомо-/гетеродимерных комплексов (ко-экспрессия κ - и δ -рецепторов приводит к формированию функционального κ - δ гетеродимера, проявляющего свойства κ_2 -рецептора), также дискутируется возможность формирования олигогетеротетрамеров, определяющих фармакологический профиль κ_3 -рецепторов [40]. В настоящее время убедительно доказано, что олигомеризация является физиологическим процессом, который в значительной мере модифицирует рецепторную фармакологию, регулирует функцию рецепторов и позволяет генерировать совершенно новые рецепторные структуры с новыми характеристиками и фармакологическими свойствами [8]. Другими словами, формирование гомо-/гетероолигомерных комплексов может рассматриваться как способ организма увеличивать функциональное разнообразие GPCR-рецепторов [47]. Комплексные каппа-олигомерные системы в различных тканях организма, в том числе и структурах мозга, являются уникальными, и специфическая пара димеров или тетрамеров будет представлять потенциальную мишень для действия селективных лигандов [38]. Исследования, направленные на поиск молекул, обладающих способностью активировать/инактивировать специфические гетеромеры, приобретают все больший интерес [55]. Это связано, прежде всего, с тем, что только ткани, экспрессирующие оба (κ_2 -) или все 4 (κ_3 -) промотора, будут мишенями для таких молекул. Полагают, ключевым моментом κ -олигомеризации *in vivo* является взаимодействие 2 и более промоторов с последующей аллостерической модуляцией кармана связывания [10]. Взаимосвязи между промоторными

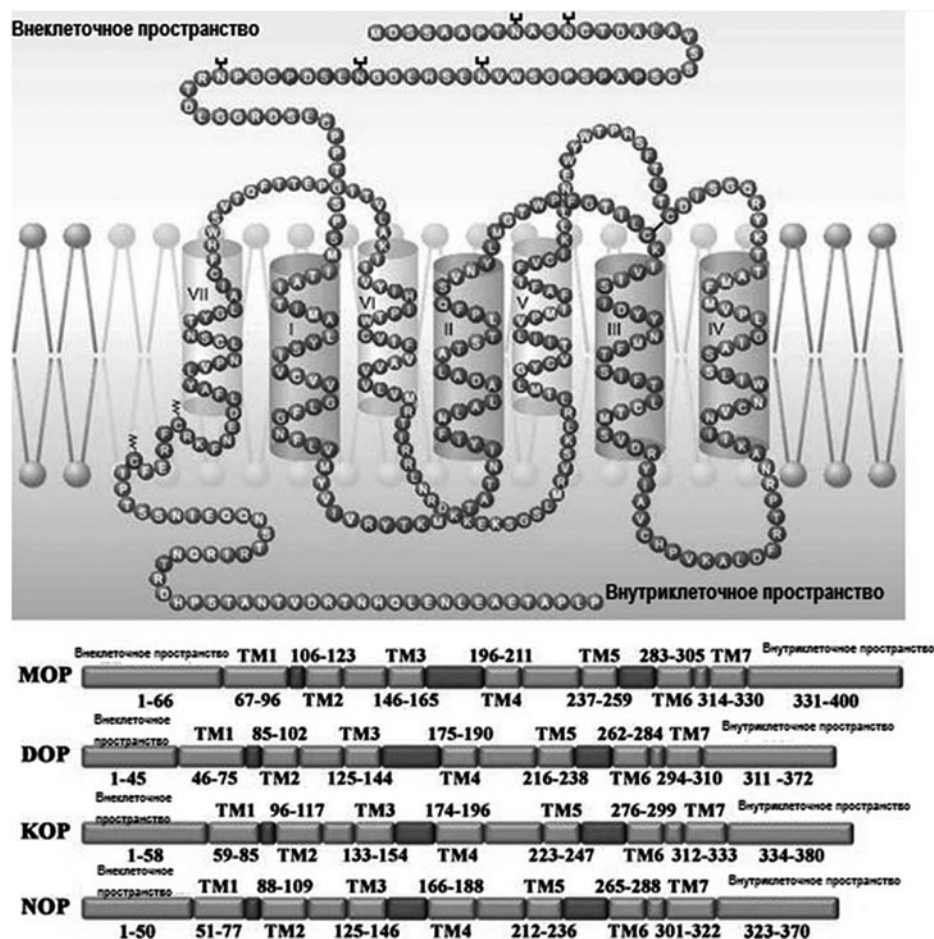


Рис. 1. Модель опиоидного рецептора [52].

Красным помечены аминокислоты, которые характерны для всех 4 типов опиоидных рецепторов (MOR, DOR, KOR, NOP). Полипептидная цепь опиоидных рецепторов 7 раз пронизывает нейрональную мембрану. Каждый трансмембранный домен (TM) указан римской цифрой I – VII. Схематические изображения вторичной структуры всех типов опиоидных рецепторов представлены ниже.

партнерами возможны в результате обмена доменами и зависят от локализации и/или специфичности димерного/тетрамерного интерфейса [54]. При этом лиганды κ - δ / μ - δ -ORL₁ олигомерных опиоидных кластеров выполняют функции аллостерических модуляторов, которые сами по себе низко активны или не активны, но обладают свойствами потенцировать действие κ -агонистов *in vitro* и *in vivo* [59]. Такие молекулы-модуляторы будут проявлять высокую селективность, поскольку клеточные эффекты будут развиваться только при одновременной активации всех промоторных партнеров в пределах гетеродимерного или гетеротетрамерного комплексов [33]. Материальное объединение κ - δ спинальных рецепторов было продемонстрировано *in vitro* и *in vivo* с использованием специально разработанного бивалентного лиганда KDN-21, способного связываться с κ - δ гетеродимерами [4, 34]. Функциональный анализ κ - δ олигомерного комплекса выявил новый рецепторный тип, проявляющий функциональные свойства, способность к миграции, характер лиганд-рецепторных взаимодействий,

отличные от таковых κ - или δ -рецепторов [15]. При этом гетеромеры проявляют низкую аффинность к соответствующим селективным лигандам. Кроме того, обнаружено, что избирательные агонисты кооперативно связываются с гетеромерами и индуцируют функциональный синергизм, включая потенцирование сигнальных систем [16]. При оценке фармакологического профиля опиоидных рецепторов в нейрональных мембранах мезентериального сплетения у свиней, ко-экспрессирующих κ - и δ -рецепторы, было выявлено наличие уникального сайта, который проявлял низкий аффинитет к δ - (DPDPE, дельторфин II, SNC80 и TIPP) или κ - (U69,593) селективным лигандам и умеренное сродство к δ - (налтрибен), BNTX) и κ - (nop-BNI, 5 ζ -GNTI) антагонистам [4]. Этот профиль хорошо согласуется с таковым, описанным для δ - κ -гетеромеров, и указывает на то, что рецепторы с подобными свойствами присутствуют в нейрональных мембранах изолированного мезентериального сплетения свиней [49]. На основании полученных данных синтезированы специфические бивалентные лиганды. Так, был разра-

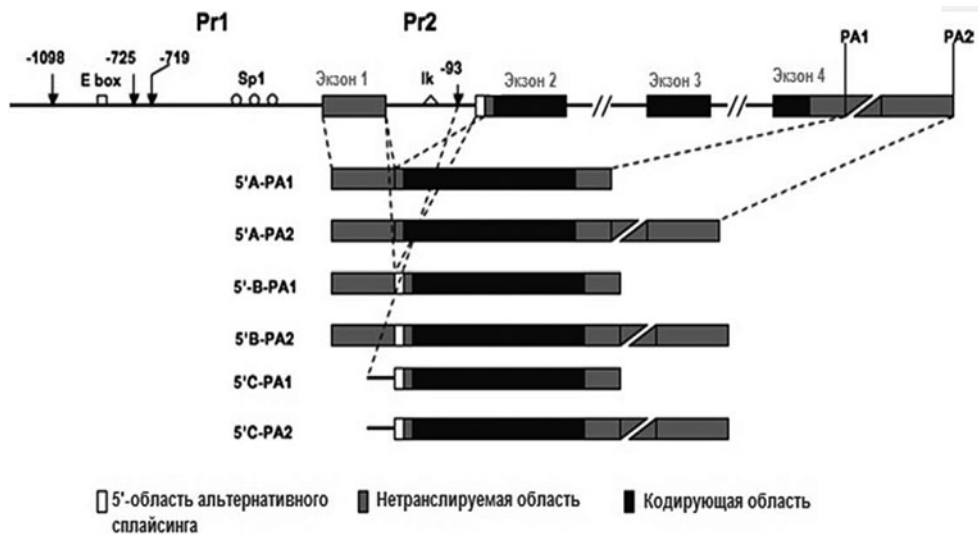


Рис. 2. Альтернативный сплайсинг гена KOR_1 [32].

Геномная структура, паттерны сплайсинга и регуляторные элементы гена опиоидного каппа-рецептора мыши. Ген, кодирующий структуру опиоидного каппа-рецептора мыши, использует 2 промотора (Pr1 и Pr2), кодирует 4 экзона (1 – 4) и может заканчиваться 2 полиадениловыми сайтами (PA1 и PA2). Альтернативный сплайсинг может произойти в интроне 1, где также находится Pr2, чтобы генерировать изоформы А и В в 5′-нетранслируемой области, которые инициируются Pr1. Изоформа С в 5′-нетранслируемой области инициируется Pr2. В общей сложности может генерироваться 6 изоформ мРНК, включая 5′А-PA1, 5′А-PA2, 5′В-PA1, 5′В-PA2, 5′С-PA1 и 5′С-PA2. Установленные участки связывания транскрипционного фактора включают E box, сайты Sp1 и Ik.

ботан бивалентный лиганд гетеромерного кластера KDAN18, который проявлял свойства к-агониста и антагониста δ -опиоидных рецепторов. KDAN18 при интратекальном введении вызывал выраженный антиноцицептивный эффект (в тесте “отдергивания хвоста”), который блокировался антагонистами δ -(NTB) и к-(por-BNI)рецепторов, демонстрируя связывание бивалентного лиганда с δ - и к-белками [3] и свидетельства о роли δ -к гетеромерного комплекса в развитии антиноцицепции. Несколько позже появились сведения о бивалентном к-антагонисте, где δ - и к-антагонисты (NTI and 5 ζ -GNTI, соответственно) были связаны вариabельными спейсерными (нетранскрибируемыми последовательностями ДНК) участками различной длины. В результате исследований по конкурентному связыванию с использованием селективных радиоллигандов ^3H -налтриндол (naltrindole) и por-BNI выявлено, что KDN-21 проявлял более высокие аффиннитет и селективность для к/ δ гетеромера по сравнению с таковыми для δ - и к-рецепторов в отдельности. Кроме того, присутствие налтриндола вызывало увеличение связывания por-BNI с сайтом к-рецептора, тогда как por-BNI в значительной мере усиливал взаимодействие налтриндола с δ -рецепторами. Данные факты объясняются с точки зрения реципрокной аллостерической модуляции рецепторов в условиях гетеромеризации. В результате предварительных исследований *in vitro* показано, что к- δ гетеромеры в спинном мозге проявляют принципиально новые фармакологические свойства (фенотипы KOR_2) [4, 59]. При этом KDN-21 оказывает выраженное антиноцицептивное действие

только при непосредственном введении в спинной мозг. Кроме того, спинально-селективный анальгетический эффект устранялся селективным бивалентным δ -к-антагонистом, подтверждая идею о том, что δ -к-гетеромерный комплекс является функциональной мишенью для препаратов, вызывающих анальгезию *in vivo* [5], что позволит повысить селективность обезболивающих препаратов и в значительной мере избежать к-опосредованных нейротоксических эффектов [40].

Действительно ли функциональные комбинации опиоидных рецепторов могут объяснить очевидное разнообразие подтипов к-рецепторов остается нерешенным. Гипотеза о том, что κ_2 - и κ_3 -рецепторы структурно напоминают друг друга и существенно отличаются от κ_1 -рецептора, единственного к-подтипа, ДНК которого была клонирована, также подтверждается с точки зрения экспериментально установленных различий в их анатомическом распределении. В результате исследований по радиолигандному связыванию с использованием высокоселективного κ_1 -агониста ^3H -U-69,593 были выявлены несколько областей наибольшего скопления κ_1 -рецепторов, включая передний мозг, дорсальное ядро шва, черную субстанцию, гипоталамус, миндалину и кору [61]. κ_2 -рецепторы идентифицированы в таламусе, гиппокампе, гипоталамусе, коре, спинном мозге. С использованием κ_3 селективного радиолиганда ^3H -налоксонбензоилгидразона обнаружена высокая плотность κ_3 -рецепторов в гипоталамусе, таламусе, полосатом теле, среднем

нальные сети ГАМК-ергических интернейронов, усиливают их влияние на огромную популяцию “принципальных” клеток и действуют как “выключатели” гиппокампальной активности в многочисленных мишенях [22].

Вовлечение внесинаптических κ-рецепторов в процессы нейрональной пластичности указывает на необходимость пересмотра современных представлений на действие нейроактивных агонистов каппа-рецепторов. Вещества, влияющие на опиоидные каппа-рецепторы, опосредуют свое действие через синаптическую передачу и ионные каналы. Установлено, что каппа-рецепторы негативно сопряжены с аденилатциклазой посредством $G_{i/o}$ -белка, модулируют калиевую, кальциевую проводимость, влияют на фосфолипазы C и D, запускают систему киназных каскадов, включая G-белок-сопряженные рецепторные киназы (GRK-киназы), а также семейство митоген-активированных протеинкиназ (МАРК-киназы): экстрацеллюлярную сигнал-регулируемую киназу (ERK1/2), p38 МАРК-киназу (p38), c-Jun N-терминальную киназу (JNK), изменяют экспрессию генов (Oprk₁, Pdyn, Mc1r, Adrbk2, Drd2, Lyst и др.), опосредованно активируют фосфолипазу A₂, гуанилатциклазу, NO-синтазу [8, 32] (рис. 3). G-белок κ-опиоидного рецептора является гетеротримером [6, 19, 33, 62], состоящим из 3 субъединиц (α, β и γ). После активации рецептора происходит диссоциация Gα и Gβγ субъединиц, каждая из которых активирует или ингибирует свой внутриклеточный эффектор. α-субъединица G-белка обладает ГТФазной активностью, и ее эффекторами являются аденилатциклаза, цГМФ-фосфодиэстераза и фосфолипаза C [6]. Эффекторами βγ-субъединиц являются GIRK-каналы (G-protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channel, G-белок сопряженные K⁺ каналы внутреннего выпрямления), фосфолипаза A₂, фосфолипаза C, ряд протеинкиназ и кальциевые каналы L-, N- и P/Q типа [25].

Опосредованные каппа-опиоидными рецепторами клеточные реакции

Прямые Gβγ- или Gα-опосредованные эффекты: активация K⁺-каналов внутреннего выпрямления (inward rectifier), угнетение потенциалзависимых Ca²⁺-каналов (N-, L-, P-, Q- и R-типа), угнетение аденилатциклазы.

Опосредованные механизмы: активация PLA₂ (фосфолипаза A₂), активация PLC_β (возможно, прямая G-βγ-активация), активация МАРК-киназы, активация Ca²⁺-чувствительных K⁺-каналов, угнетение Т-типа потенциалзависимых Ca²⁺-каналов, прямая ингибция экзоцитоза нейромедиаторов.

Реакции, являющиеся следствием опиоидопосредованных изменений в других эффекторных системах: активация потенциалзависимых K⁺-каналов (активация PLA₂), угнетение М-каналов (активация PLA₂), угнетение активированных гиперполяризацией катионных каналов (Ih) (снижение уровня цАМФ в результате ингибции аденилатциклазы), увеличение уровня

свободного внутриклеточного Ca²⁺ (активация PLC_β, активация L-типа потенциалзависимых Ca²⁺-каналов), угнетение высвобождения нейромедиаторов (глутамата, дофамина и т.д. за счет угнетения аденилатциклазной активности, активации K⁺-каналов, угнетения потенциалзависимых Ca²⁺-каналов, снижение нейрональной возбудимости (активация K⁺-каналов), увеличение частоты нейрональной импульсации (угнетение высвобождения ингибиторных нейромедиаторов — растормаживание в результате угнетения спонтанного высвобождения ГАМК из ГАМК-ергических интернейронов в результате активации дендротоксинчувствительных потенциалзависимых K⁺-каналов). Механизм активации K⁺-каналов запускается PLA₂ с последующим метаболизмом арахидоновой кислоты (по 12-липоксигеназному пути), изменения экспрессии генов (долговременные изменения аденилатциклазной активности), увеличение уровня внутриклеточного кальция, активация CREB (cAMP response element binding protein, цАМФ-зависимый транскрипционный фактор) [13].

Стимуляция опиоидных κ-рецепторов вызывает Gα_i-опосредованное ингибирование аденилатциклазной активности и, как следствие, снижение продукции цАМФ. Сразу после диссоциации Gβγ и Gα_i, Gβγ непосредственно активирует субсемейство Kir3 GIRK-каналов [26] и вызывает усиление калиевого тока. Кроме того, полагают, что прямое связывание Gβγ субъединиц с кальциевым каналом приводит к снижению открытия потенциал-зависимых каналов и индуцированной κ-рецепторами ингибции Ca²⁺ токов. Эти события вызывают гиперполяризацию клеточной мембраны и блокируют передачу ноцицептивных сигналов в ЦНС, что может лежать в основе обезболивающих эффектов агонистов κ-рецепторов [6].

GIRK каналы активируются непосредственно Gβγ-субъединицами. Ранее изучались эффекты КОР в норадренергических ядрах голубого пятна. У мышей, лишенных Kir3.2/3, нейроны голубого пятна были в большей степени деполяризованы в покое, а диноρφин-индуцированная гиперполяризация была значительно снижена [48]. Кроме того, примерно в одной трети нейронов тройничного ядра *pars caudalis* спинного мозга U69,593 и диноρφин А вызывали гиперполяризацию, которая была чувствительна к концентрации внеклеточного калия. С использованием метода фиксации потенциалов в конфигурации “целая клетка” показано, что U50,488 и U69,593-индуцированная активация КОР, ко-экспрессированных с GIRK-субъединицами (1, 2 или 3) в ооцитах *Xenopus*, вызывала увеличение проводимости GIRK каналов [3]. Также установлено, что наряду с калиевыми каналами внутреннего выпрямления (Kir) κ-рецепторы могут сопрягаться с потенциалзависимыми калиевыми каналами задержанного выпрямления (Kv) [22].

В гиппокампе блок высвобождения возбуждающих нейромедиаторов в значительной степени зависит от положительного сопряжения опиоидных κ -рецепторов с калиевыми каналами и негативного — с кальциевыми каналами. В нейрогипофизе активация κ -рецепторов уменьшает ток кальция и секрецию гормонов за счет механизмов, эффективно блокирующихся ингибиторами L-, N- и P/Q-типов кальциевых каналов [52]. В переднем мозге, в корковых синапсах, ГАМК-ергических синапсах прилежащего ядра κ -рецептор-индуцированная пресинаптическая ингибиция также зависела от негативного сопряжения с N-типом потенциал-зависимых кальциевых каналов, где стимуляция κ -рецепторов приводила к угнетению тока кальция в нейронах, опосредуя своё действие через клаушный токсин чувствительные $G_{\text{оц}}$ -белки. Аналогичным образом динорфин, а также U50,488 ингибировали высокопороговые кальциевые каналы в малых и средних (то есть, не ГАМК-ергических) нейронах бледного шара [43].

Имеются также данные, свидетельствующие о том, что активация κ -рецептора вызывает мобилизацию кальция из внутриклеточных депо за счет инозитол-трифосфатного пути и может приводить к усилению гиперполяризационно-активированных токов (I_h) в большом ядре шва. Так, в нейронах большого ядра шва U50,488 увеличивал амплитуду гиперполяризации активированных неселективных катионных каналов. При этом κ -опосредованное увеличение I_h зависело от гепарин-чувствительного IP_3 (инозитол-1,4,5-трифосфат, ИФ3), регулирующего высвобождение внутриклеточного кальция [6]. В культуре клеток Neuro2 также показано, что U50,488-индуцированная κ -активация приводит к мобилизации кальция из внутриклеточных депо [22]. Разнообразие сопряжений КОР может зависеть от типа синапса или клеток мишеней. Эти данные позволяют предположить, что активация КОР снижает возбудимость нейронов в результате прямого угнетения кальциевой проводимости и активации потенциал-зависимых калиевых каналов, а также опосредованно за счет активации кальций-зависимых калиевых каналов [33].

Активация κ -рецепторов вызывает каскад реакций с участием MAPK-киназ: ERK, JNK и p38. MAPK-киназный каскад регулирует разнообразные клеточные реакции, включая клеточную пролиферацию, дифференциацию, эмбриогенез, апоптоз, факторы транскрипции, фосфорилирование ионных каналов и т.д. MAPK-киназы кодируются 12 различными генами и являются уникальным с точки зрения способности отвечать на огромное количество стимулов и транслировать их в разнообразные внутриклеточные сигналы посредством белок-белковых взаимодействий и каскадов фосфорилирования [6, 21]. Первые работы [46] по изучению κ -рецептор-опосредованной модуляции синаптической передачи продемонстрировали, что ди-

норфин-каппа-рецепторная система регулирует глутаматергическую синаптическую передачу, а также синаптическую пластичность, в основном, посредством пресинаптического торможения высвобождения медиатора в синапсах гиппокампа. Установлено, что стимуляция κ -рецепторов приводит к последующей активации семейства MAPK-киназ. Кроме того, в дополнение к кратковременным эффектам развивается динорфин-рецептор-индуцированная модуляция долговременной синаптической пластичности и когнитивных функций. Белки семейства MAPK, такие как ERK и p38 MAPK, оказывают специфическое влияние, как на долговременную, так и кратковременную синаптическую пластичность. ERK может сопрягаться с дендритными K_v каналами, которые, в свою очередь, могут регулировать возбудимость мембран. На классической модели долговременной пластичности NMDA-каналы выступают в качестве детектора деполяризации мембраны и связывания с глутаматом. Недавно обнаружено, что ERK и p38 MAPK оказывают противоположные эффекты на поверхностно расположенные AMPA рецепторы (рецепторы α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты) и их функции в одной и той же клетке [41], что предполагает различные пути сигнальной трансдукции для регулирования пластичности. Установлено, что p38 MAPK участвует в фосфорилировании натриевых каналов, локализованных в ганглиях задних корешков спинного мозга, что вызывает увеличение натриевого тока в этих нейронах [30]. Таким образом, p38 MAPK может вызывать синаптическую депрессию в одних частях нервной системы и повышение возбудимости клеток в других. Динорфин- κ -рецепторная система может модулировать эффекты активации ERK и p38 MAPK. Интересно, что блокаторы кальциевых каналов L-типа (например, нифедипин) или вещества, угнетающие высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточного депо (например, дантролен), уменьшают U69,593-индуцированную активацию ERK 1/2. Вполне возможно, что КОР-индуцированная активация ERK 1/2 и p38 MAPK может происходить в одной клетке или синапсе, влияя на различные формы нейрональной пластичности посредством различных сигнальных комплексов. Каппа-рецептор-опосредованная пролиферация астроцитов в спинном мозге зависит от увеличения активности p38 MAPK. Изменения или регуляция функций астроцитов, как следствие индукции p38 MAPK, могут иметь существенные последствия для синаптической передачи. Показано, что астроциты влияют на глутаматергическую синаптическую функцию как за счет генерации кальциевого тока, так и глутаматергического захвата [6]. κ -Опосредованное усиление пролиферации астроцитов может вносить вклад в изменение клеточной возбудимости при нейропатической боли [22]. Стимуляция κ -белка p38 MAPK-зависимо увеличивает активацию фактора транскрипции Zif268

(Egr1) [33]. Было установлено, что SB203580-индуцированное угнетение р38 MAPK уменьшает вызванную U50,488 условно рефлекторную реакцию избегания места и время иммобилизации животных в тесте форсированного плавания Порсольта и при этом не оказывает влияния на выраженность анальгезии [7].

Результаты этих исследований позволили предположить, что селективный агонист κ-рецепторов, не активирующий р38 MAPK, стимуляция которой является предпосылкой для κ-опосредованных аверсивных реакций, не будет вызывать дисфорию и сохранит достаточно высокую анальгетическую эффективность, необходимую для лечения различных состояний, связанных с выраженным болевым синдромом [6, 21, 59]. Этот гипотетический лиганд не будет активировать дофаминергическую систему “награды”, так как это делают μ-агонисты, что связано с различной локализацией μ- и κ-рецепторов в мозге [9, 22].

В литературе [6, 22] описаны интересные особенности κ-антагонистов, а именно их продолжительность действия. Эффекты (блокирование опиоидных κ-рецепторов, антидепрессивное, антипсихотическое действие, влияние на пищевое поведение) антагонистов κ-рецепторов *norBNI*, *GNTI*, *JDTic*, *DIPPA* являются необычным событием, по сравнению с другими антагонистами опиоидных рецепторов (наллоксоном, налтриндолом, квадазоцином и др.), поскольку могут сохраняться неделями, а иногда даже месяцами, что может существенно ограничивать их применение в клинической практике. Установлено, что *norBNI*, *GNTI*, и *JDTic* вызывают долгосрочную инактивацию κ-рецептора за счет фосфорилирования JNK [7]. На этом основании позиционируется идея о том, что антагонисты κ-рецепторов, не активирующие JNK-киназу, могут быть эффективными, а также быстродействующими препаратами, повышающими устойчивость организма к стрессу [6]. Авторы полагают, что длительно действующие κ-антагонисты инактивируют каппа-рецепторный сигнальный комплекс *in vivo* за счет высокоаффинного связывания κ-рецептора с гипотетическим JNK-субстратом, который стерически будет блокировать сопряжение κ-рецептора с G-белком. Данная гипотеза подтверждается способностью ингибиторов JNK полностью устранять персистирующий антагонизм *norBNI*, *GNTI*, *JDTic* и др. в отношении анальгезии, опосредованной κ-рецепторами [6]. Данная гипотеза, на наш взгляд, представляется весьма интересной с точки зрения разработки новой генерации лекарственных препаратов для лечения депрессий, неврозоподобных состояний, психотических расстройств, аддикции, булимии, селективно воздействующих на специфические мишени сигнального каскада опиоидного κ-рецептора.

κ-Рецепторы функционируют как динамическая мультikonформационная белковая система, которая

контролируется специфическими лигандами, запускает различные пути сигнальной трансдукции, интернализируется с формированием олигомерных комплексов и производит уникальные эффекты по своему индивидуальному рецепторному типу [6, 18, 62]. Функциональная селективность, способность κ-лигандов непосредственно вызывать конформационные изменения рецепторов и, как следствие, стимул-специфические сигнальные эффекты в настоящее время широко используется при разработке препаратов, открывает новые горизонты для изучения κ-рецепторов как мишени для действия лекарственных веществ и предлагает новые возможности для лечения широкого спектра заболеваний. Результаты фармакологических исследований и работ по молекулярному моделированию подтверждают гипотезу о том, что κ-рецепторы существуют как динамические объекты, принимающие многочисленные конформации, которые в значительной мере зависят от характера лиганда, рецепторного типа [37].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Каппа-опиоиды представляют собой химически разнообразный, фармакологически сложный класс лигандов, обладающий спектром опиоидной и неопиоидной рецепторной аффинности и множеством фармакологических свойств. За последние 30 лет синтезированы тысячи каппа-агонистов в попытке создания веществ, более активных, селективных, с минимальными морфиноподобными побочными эффектами. Однако клинические исследования препаратов первого поколения были прекращены из-за седации и дисфории [1, 19, 22]. С развитием высокоселективных лигандов опиоидных каппа-рецепторов, появляется все больше свидетельств того, что клинически эффективные каппа-селективные препараты могут быть разработаны без серьезных побочных эффектов, ограничивающих их применение. Изучение механизмов каппа-опосредованной модуляции нейрональной активности, исследований GPCR-рецепторной сигнальной трансдукции, вторичных и третичных мессенджеров, вероятно, помогут фармакологам в значительной мере продвинуться в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. V. Aldrich, P. J. McLaughlin, *J. AAPS*, **2**, 312 – 322 (2009).
2. S. M. Appleyard, J. P. McLaughlin, C. Chavkin, *J. Biol. Chem.*, **275**(49), 38281 – 38285 (2000).
3. K. A. Berg, A. M. Patwardhan, A. N. Akopian, *Pharmaceuticals (Basel)*, **5**(3), 249 – 278 (2012).
4. R. G. Bhushan, S. K. Sharma, Z. Xie, et al., *J. Med. Chem.*, **47**, 2969 – 2972 (2004).
5. D. I. Brissett, J. L. Whistler, R. M. van Rijn, *Eur. J. Pain*, **16**(3), 327 – 337 (2012).
6. M. R. Bruchas, C. Chavkin, *J. Psychopharm.*, **2**, 137 – 147 (2010).
7. M. R. Bruchas, B. B. Land, M. Aita, et al., *J. Neurosci*, **27**(43), 11614 – 11623 (2007).

8. S. Bulenger, S. Marullo, M. Bouvier, *Trends Pharmacol. Sci.*, **26**(3), 131 – 137 (2005).
9. W. J. Carlezon, C. Beguin, A. T. Knoll, et al., *J. Pharmacol. Ther.*, **3**, 334 – 343 (2009).
10. J. Cheng, B. P. Roques, G. A. Gacel, *Eur. J. Pharmacol.*, **226**, 15 – 20 (1992).
11. A. D. Conigrave, A. H. Franks, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **81**, 219 – 240 (2003).
12. Connor M., Kitchen I., *Br. J. Pharmacol.*, **147**(4), 349 – 350 (2006).
13. A. D. Corbett, G. Henderson, A. T. McKnight, et al., *British J. Pharm.*, **147**, 153 – 162 (2006).
14. B. M. Cox, A. Borsodi, G. Caló, et al., *Last modified on 2009-10-29. IUPHAR database* (2009).
15. L. He, J. Fong, M. Zastrow, et al., *Cell.*, **108**(2), 271 – 282 (2002).
16. B. A. Jordan, L. A. Devi, *Nat.*, **399**(6737), 697 – 700 (1999).
17. B. E. Kane, B. Svensson, D. M., *J. AAPS.*, **1**, 126 – 137 (2006).
18. T. Kenakin, *Trends Pharmacol. Sci.*, **28**(8), 407 – 415 (2007).
19. B. Kivell, T. E. Prisinzano, *Psychopharm.*, **210**(2), 109 – 119 (2010).
20. A. T. Knoll, J. Carlezon, *Brain Res*, **1314**, 56 – 73 (2010).
21. J. M. Kyriakis, J. Avruch, *Physiol. Rev.*, **92**(2), 689 – 737 (2012).
22. J. C. Lemos, C. Chavkin, *Kappa-opioid receptor function, Opiate receptors*, Pasternak G. W. (ed.) (2011), pp. 226 – 305.
23. X. Y. Li, L. Sun, J. He, et al., *Brain Res.*, **1326**, 30 – 39 (2010).
24. J. Lin, H. Wang, J. Li, et al., *Cytokine.*, **61**(3), 842 – 848 (2013).
25. L. Y. Liu-Chen, *Life Sci.*, **75**(5), 511 – 536 (2004).
26. R. Luján, E. Marron Fernandez de Velasco, C. Aguado, et al., *Trends Neurosci.*, **37**(1), 20 – 29 (2014).
27. M. J. Marinissen, J. S. Gutkind, *Trends Pharmacol. Sci.*, **22**, 368 – 376 (2001).
28. W. R. Martin, *Pharmacol. Rev.*, **19**(4), 463 – 521 (1967).
29. J. P. McLaughlin, M. Xu, K. Mackie, et al., *J. Biol. Chem.*, **278**(36), 34631 – 34640 (2003).
30. K. Mizukoshi, M. Sasaki, Y. Izumi, et al., *Neurosci.*, **234**, 77 – 87 (2013).
31. Y. X. Pan, J. Cheng, J. Xu, et al., *Regul. Pept.*, **54**, 217 – 218 (1994).
32. G. W. Pasternak, Y. X. Pan, J. Cheng, *Ann. Acad. Sci.*, **757**, 332 – 338 (1995).
33. G. W. Pasternak, *The Opiate receptors, The Receptors*, **516** (2011).
34. X. Peng, J. L. Neumeyer, *Cur. Top. Med. Chem.*, **7**(4), 363 – 373 (2007).
35. P. K. Peterson, G. Gekker, J. R. Lokensgard, et al., *Biochem. Pharmacol.*, **61**(9), 1145 – 1151 (2001).
36. N. Q. Phan, T. Lotts, A. Antal, et al., *Acta Derm Venereol.*, **92**(5), 555 – 560 (2012).
37. I. D. Pogozheva, M. J. Przydzial, H. I. Mosberg, *J. AAPS.*, **7**(2), 434 – 448 (2005).
38. D. Ramsay, E. Kellett, M. McVey, *Biochem. J.*, **365**(2), 429 – 440 (2002).
39. B. A. S. Reyes, C. Chavkin, E. J. Bockstaele, *J. Comp. Neurol.*, **512**(3), 419 – 431 (2009).
40. R. R. Rozenfeld, I. Gomes, L. A. Devi, *Opiate receptors*, Pasternak G. W. (ed.) (2011), pp. 407 – 438.
41. G. Rumbaugh, J. P. Adams, J. H. Kim, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**(12), 4344 – 4351 (2006).
42. D. E. Rusovici, S. S. Negus, N. K. Mello, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **485**(1), 119 – 125 (2004).
43. S. Schwarzer, *Pharmacol. Ther.*, **32**, 118 – 125 (2011).
44. F. Simonin, C. Gaveriaux-Ruff, K. Befort, et al., *PNAS.*, **92**, 7006 – 7010 (1995).
45. C. Stein, L. J. Lang, *Cur. Opin. Pharmacol.*, **9**(1), 3 – 8 (2009).
46. A. L. Svingos, E. E. Colago, V. M. Pickel, *J. Neurosci.*, **19**(5), 1804 – 1813 (1999).
47. K. Tadagaki, R. Jockers, M. Kamal, *Neuroendocrinology*, **95**(3), 223 – 231 (2012).
48. M. Torrecilla, C. L. Marker, S. C. Cintora, et al., *J. Neurosci.*, **22**(11), 4328 – 4334 (2002).
49. D. T. Townsend, P. S. Portoghese, D. R. Brown, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **308**(1), 385 – 393 (2004).
50. A. M. Trescot, S. Datta, M. Lee, et al., *Pain Physician.*, **11**, 133 – 153 (2008).
51. T. W. Vanderah, *Clin. J. Pain.*, **26**(10), 10 – 15 (2010).
52. A. Veer, W. A. Carlezon, *Psychopharmacology (Berl)*, **229**(3), 435 – 452 (2013).
53. V. Vukojević, Y. Ming, L. Terenius, *Encyclopedia of Signaling Molecules*, **1**, 1304 – 1312 (2012).
54. M. Waldhoer, J. Fong, R. M. Jones, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**(25), 9050 – 9055 (2005).
55. D. Wang, X. Sun, L. M. Bohn, et al., *Mol. Pharmacol.*, **67**(6), 2173 – 2184 (2005).
56. Y. H. Wang, J. F. Sun, Y. M. Tao, et al., *Acta Pharmacol. Sin.*, **31**(9), 1065 – 1070 (2010).
57. K. M. Wannemachera, A. Terskiy, S. Bian, et al., *Brain Res.*, **3** – 26 (2008).
58. G. X. Xie, F. Meng F, A. Mansour, et al., *PNAS.*, **91**, 3779 – 3783 (1994).
59. Z. Xie, R. G. Bhushan, D. J. Daniels, et al., *Mol. Pharmacol.*, **68**(4), 1079 – 1086 (2005).
60. L. Zhou, K. M. Lovell, K. J. Frankowski, *J. Biol. Chem.*, **288**(51), 36703 – 36716 (2013).
61. R. S. Zukin, M. Eghbali, D. Olive, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 4061 – 4065 (1988).
62. Л. Н. Маслов, Л. Хануш, Ж. М. Пей и др. *Эксперим. и клин. фармакол.*, **76**(3), 41 – 48 (2013).

Поступила 08.10.14

KAPPA-OPIOID RECEPTOR: MOLECULAR STRUCTURE AND FUNCTION

A. A. Spasov^{1,2}, O. Yu. Grechko¹, and D. M. Shtareva¹

¹ Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

² Volgograd Medical Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

It is established that kappa-opioid receptors have complicated structure. These receptors may play the important role in different processes in CNS

Keywords: kappa-opioid receptors; CNS.