

Иммуногистохимическая детекция каппа-опиоидных рецепторов в коже человека

С.И. Бобко¹, Т. Lotts², D. Metze², А.Н. Львов³, S. Ständer²

¹ ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Компетентный центр по изучению хронического зуда Университетской клиники кожных болезней г. Мюнстера

48149, Германия, Мюнстер, Von-Esmarch-Straße, 58

³ ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России
107076, Москва, улица Короленко, д. 3, стр. 6

В качестве одной из причин хронического зуда в настоящее время предполагается дисбаланс системы мю- и каппа-опиоидных рецепторов в коже или в центральной нервной системе. В нескольких исследованиях продемонстрирован положительный эффект системных агонистов каппа-опиоидных рецепторов в лечении уремического зуда, узловатой почесухи, паранеопластического и холестатического зуда. В настоящей работе демонстрируется экспрессия каппа-опиоидных рецепторов в коже человека (базальных кератиноцитах, дендритных клетках, меланоцитах эпидермиса и фибробластах сосочкового слоя дермы), определенная с помощью различных иммуногистохимических методик.

Ключевые слова: **экспрессия каппа-опиоидных рецепторов, зуд, агонисты каппа-опиоидных рецепторов; иммуногистохимические исследования, динорфин.**

Контактная информация: sbobko@mail.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2013; (1): 30—37.

Immunohistochemistry detection of kappa-opioid receptors in human skin

S.I. Bobko¹, T. Lotts², D. Metze², A.N. Lvov³, S. Staender²

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Trubetskaya street 8 bldg 2, 119991, Moscow, Russia

² Competence Center for Chronic Pruritus, University Hospital for Skin Diseases, Muenster

Germany, 48149, Munster, Von-Esmarch-Strasse, bldg 58

³ State Research Center of Dermatology, Venereology and Cosmetology, Ministry of Health Care of the Russian Federation, Moscow

Korolenko street 3, bldg 6, 107076, Moscow, Russia

The imbalance of μ - and kappa-opioid receptors in the skin or central nervous system is currently deemed to be one of the reasons of chronic pruritus. A number of studies demonstrated a positive effect of system agonists of kappa-opioid receptors in the treatment of uremic pruritus, nodular pruritus, paraneoplastic and cholestatic pruritus. This research demonstrates an expression of kappa-opioid receptors in human skin (basal keratinocytes, dendritic cells, epidermal melanocytes and fibroblasts of the upper dermis) detected with the use of different immunochemistry methods.

Key words: **expression of kappa-opioid receptors, pruritus, agonists of kappa-opioid receptors, immunochemistry studies, dynorphin.**

Corresponding author: sbobko@mail.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2013; 1: 30—37.

■ Зуд — один из ключевых и наиболее торпидных симптомов при ряде дерматозов. В настоящее время особенно актуальны поиски новых патогенетических механизмов зуда для развития целенаправленной терапии. Одним из направлений исследований является изучение состояния (дисбаланса) системы опиоидных рецепторов в коже и центральной нервной системе, играющих роль в индукции зуда. В классических исследованиях выделяются три основных класса опиоидных рецепторов: каппа-опиоидные рецепторы (КОР), мю-опиоидные рецепторы (МОР) и дельта-опиоидные рецепторы (ДОР) [1—3]. Все три класса опиоидных рецепторов относятся к семейству рецепторов, чувствительных к токсину коклюша, сопряженных с G-белком, образованных 7 трансмембранными сегментами рецепторов, подсемейству родопсин [4, 5].

Экспрессия каппа-опиоидных рецепторов (КОР) в коже

Как показано в ряде современных исследований, КОР экспрессируются в кератиноцитах кожи человека [6, 7], равно как и в дермальных фибробластах [7, 8] и мононуклеарных клетках [8]. Это продемонстрировано в исследованиях на культурах клеток (например NaCaT, HNK) и биоптатах кожи по уровню матричной РНК и белка. Соответствующие лиганды КОР-динорфин [9—16] были обнаружены в эпидермисе [6].

Предполагается, что существуют три разных подтипа КОР (K1, K2, K3), это базируется на исследованиях по связыванию лиганда с рецептором, но до настоящего времени идентифицирован только один из них (GenBank Acc. No. U11053) [21—27].

При сравнении экспрессии КОР в клетках нормальной, неизмененной кожи и в кератиноцитах и фибробластах гипертрофических рубцов с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) [7] показано увеличение экспрессии КОР в тканях гипертрофических рубцов, что служит подтверждением усиления ноцицепции в рубцах.

В другой работе продемонстрировано, что экспрессия КОР значительно снижена в эпидермисе у пациентов с псориазом, сопровождаемым зудом, по сравнению с контрольной группой здоровых добровольцев [17]. Дополнительно активация КОР рецепторно регулирует выработку цитокинов и хемокинов в клеточных культурах лимфоцитов и может вызывать про-твовоспалительный ответ [18].

Материал и методы

Для исследования экспрессии КОР в нормальной коже человека мы проводили иммуногистохимическое исследование биоптатов, взятых из различных областей.

Подготовка ткани и иммуногистохимические методы

Биоптаты нормальной здоровой кожи с различных участков кожного покрова (голова, лицо, туловище,

конечности) были получены у 40 пациентов (25 женщин, 15 мужчин) разного возраста (14—82 года, средний возраст 54,7 года). Биоптаты были взяты преимущественно с кожи верхних и нижних конечностей ($n = 23$), в также с кожи туловища ($n = 5$), лица ($n = 5$), волосистой части головы ($n = 2$); информации о локализации 5 образцов биоптатов из базы биопсий представлено не было.

Пробанды были информированы относительно исследования и дали добровольное согласие на участие в нем. Разрешение локального этического комитета было получено. Образцы кожи после биопсии были немедленно заморожены в жидком азоте, и из них с использованием геля Neg-50 были приготовлены срезы с помощью криостат-микротомы (Micom Int., Walldorf, Germany), которые затем помещались на специальное предметное стекло (SuperFrost Plus, фирмы Menzel-Gläser).

Замороженные срезы нативной криоткани (3 мкм, два от каждой биопсии) были фиксированы в 2% растворе параформальдегида в фосфатном буфере и 1% растворе пикриновой кислоты в течение 20 мин. и преинкубированы в течение 30 мин. с 10% раствором бычьего сывороточного альбумина в гидроксиметил-аминометановом буфере. Образцы были затем инкубированы в течение ночи при комнатной температуре с мышиными моноклональными антителами к КОР (1:100, раствор для разведения антител DAKO, антитела к КОР фирмы Lifespan/Biozol, Германия). После трех очисток (проводка в моющем средстве) с помощью 0,1 М гидроксиметил-аминометанового буфера (каждая по 3 мин.) образцы были инкубированы с кроличьим флюоросцеинизотиоцианатом (FITC), маркированным антимышиными антителами (1:50, раствор для разведения антител DCS, фирмы DAKO, Дания). Для двойного иммунофлюоресцентного окрашивания образцы были сначала инкубированы в течение ночи с крысиными поликлональными антителами к лангерину (разведение 1:200, раствор для разведения антител DCS, CD 207 клон лангерина 929F3) или козьими поликлональными антителами к динорфину C-12 (разведение 1:100, раствор для разведения антител DCS фирмы Santa Cruz, США), затем инкубированы с антителами к КОР в течение 3 ч. В качестве конъюгата использовались антитела антимышиные с флюоресцирующей красной меткой родамином Texas Red (разведение 1:400, раствор для разведения антител DCS фирмы Dianova, Германия) и FITC-маркированными антикрысиными антителами (1:500, раствор для разведения антител DCS фирмы DAKO, Дания) или «алекса флуор» антикозлиные антитела (разведение 1:800, раствор для разведения DCS, фирмы Invitrogen, США) с FITC-маркированными антимышиными антителами (1:50, раствор для разведения антител DCS фирмы DAKO, Дания) соответственно. Для подтверждения окрашивания флюоресцентные

антитела были использованы перекрестно, антитела к КОР были обнаружены с помощью крысиных FITC-маркированных антимышиных антител (1:50, раствор для разведения антител DCS фирмы Dianova, Германия) или в случае двойного иммунофлуоресцентного окрашивания с лангерином — с помощью Texas Red конъюгированных антимышиных антител (разведение 1:400, раствор для разведения антител Dianova, Германия), в то время как для динорфина — с помощью FITC-маркированных антикрысиных антител (разведение 1:500, раствор для разведения DCS фирмы DAKO, Дания).

Также для двойного иммунофлуоресцентного окрашивания с моноклональными крысиными CD 56 (NCAM1, разведение 1:50, раствор для разведения DCS, LifeSpan Biozol, Германия) использовались моноклональные мышиные антитела к КОР (разведение 1:100; раствор для разведения DAKO, КОР, LifeSpan Biozol, Германия). Использовались те же методы, но другие конъюгаты: Texas Red конъюгированные антимышиные антитела (разведение 1:400, раствор для разведения DCS фирмы Dianova, Германия) и свиные FITC-маркированные антикрольчьи антитела (разведение 1:50, раствор для разведения антител DCS фирмы DAKO, Дания). После окончательной промывки с раствором DCS использовались покровные стекла со средой для микроскопирования (лаборатории Vectra Labs, США). Препараты были немедленно исследованы и сфотографированы с помощью флуоресцентного микроскопа (Olympus BX 61, Гамбург, Германия).

Специфичность антител к опиоидным рецепторам была доказана заменой антител к КОР сывороточными мышиными антителами G, которые не приводят к специфической иммуноокраске нормальной кожи.

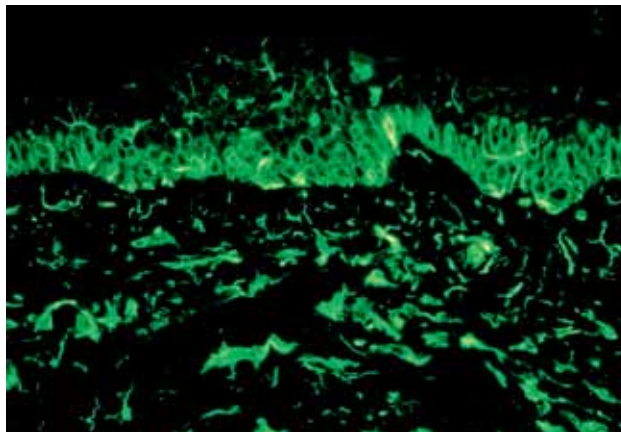
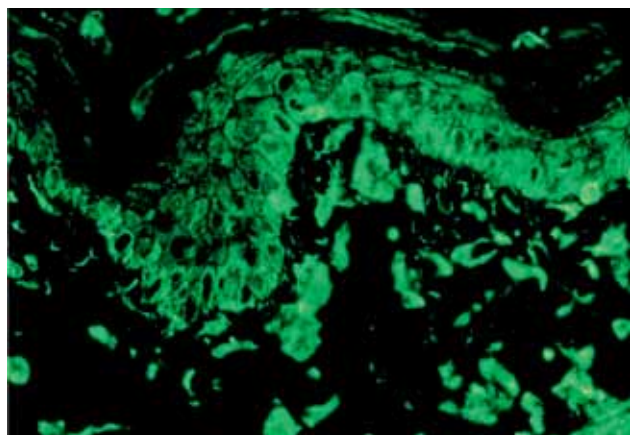


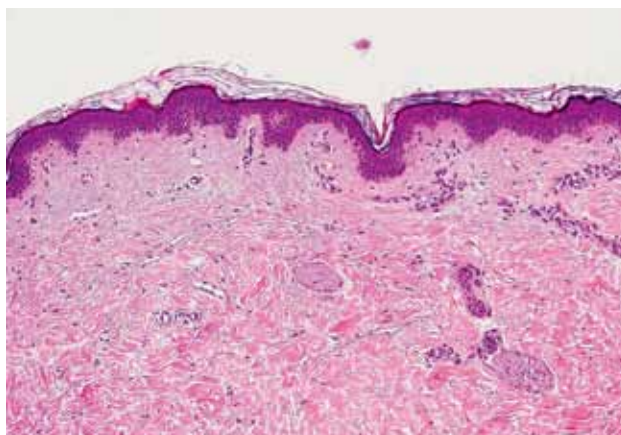
Рис. 1. Иммунореактивность КОР в нормальной коже. Интенсивная окраска с антителами к КОР базальных кератиноцитов и фибробластов дермы, дендритных клеток в эпидермисе. Ув. 400

Результаты

Иммунореактивность КОР в нормальной коже носила достаточно обширный характер и была представлена в эпидермисе, в основном в базальном слое (рис. 1, 2а, 4). По сравнению с клетками эпидермиса базальные клетки были окрашены антителами к КОР в разведении 1:100 в более интенсивный зеленый цвет. Дополнительно КОР были выявлены в клетках Лангерганса, эти клетки обнаружены в эпидермисе с помощью двойной окраски с лангерином (рис. 3).



а



б

Рис. 2. Иммунореактивность к КОР в нормальной коже (а) и соответствующая гистологическая картина (окраска гематоксилином и эозином; базальные кератиноциты и фибробласты дермы окрашены более интенсивно антителами к КОР (б)). Ув. 400

Кроме этого, очевидной оказалась экспрессия КОР в поверхностных кожных нервных волокнах в эпидермисе и папиллярной дерме, субэпидермальных и интраэпидермальных нервах (см. рис. 1, 2а, 4), обнаруженная с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания с антителами к КОР в разведении 1:100.

Помимо этого была обнаружена иммунореактивность КОР в меланоцитах (см. рис. 1, 2, 4).

Наконец, в дерме КОР были представлены в фибробластах (см. рис. 1, 2а, 4). При обоих протоколах исследования — с добавлением специфичных конъюгатов для выявления антител-FITC в качестве зеленой флуоресцентной метки или родамина (Texas Red) в качестве красной метки — были выявлены сопоставимые результаты, связанные с окрашиванием базальных кератиноцитов. Распределение иммунореактивности КОР в каждом биоптате образцов кожи с различных участков, таких как лицо, голова, туловище, конечности (см. рис. 1, 2, 4) и кожа ладоней и подошв, было почти идентичным. В 8 пробах иммунореактивность к антителам КОР выявлена во всем эпидермисе, в 17 пробах — преимущественно базально, в 3 пробах — супрабазально, в нескольких пробах констатировалась гранулярная окраска.

При анализе результатов значительных различий между пробами, взятыми у пациентов разного возраста и при различной локализации, не отмечалось.

Также при двойной иммунофлуоресцентной окраске с динорфином С-12 и КОР показано двойное окрашивание базальных кератиноцитов (рис. 4).

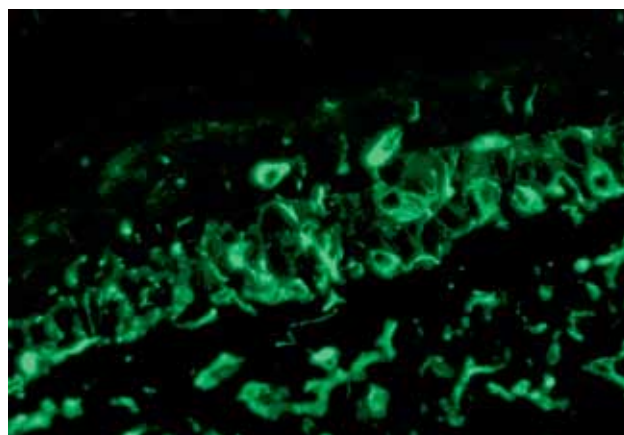
Кроме того, специфичная двойная окраска с антителами к CD 56 и КОР выявила экспрессию КОР в интраэпидермальных и субэпидермальных нервах (рис. 5).

Обсуждение

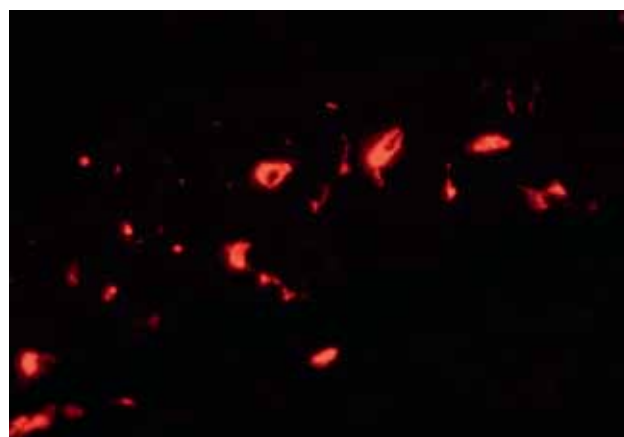
КОР широко распространены в коже и центральной нервной системе [51—53]. Предыдущие исследования показали, что каппа-, мю-, дельта-опиоидные рецепторы локализируются в чувствительных нервных волокнах кожи крыс [19, 20]. Экспрессия КОР в субэпидермальных нервных волокнах продемонстрирована в иммуногистохимических образцах в рубцовой ткани человека [7].

В нашем исследовании продемонстрировано наличие КОР в интраэпидермальных и субэпидермальных нервах с помощью двойного иммунофлуоресцентного окрашивания образцов антителами к CD 56 и антителами к КОР.

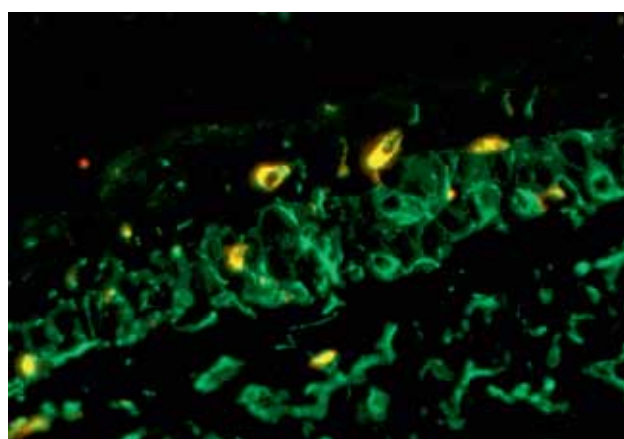
Мы предполагаем, что КОР в нервах вовлечены в индукцию зуда. Кроме интраэпидермальных нервов КОР широко распространены в центральной нервной системе и других частях периферической нервной системы. В центральной нервной системе КОР локализируются в аксонах и медиальной префронтальной коре [29], в прилежащих ядрах, гипоталамических



а

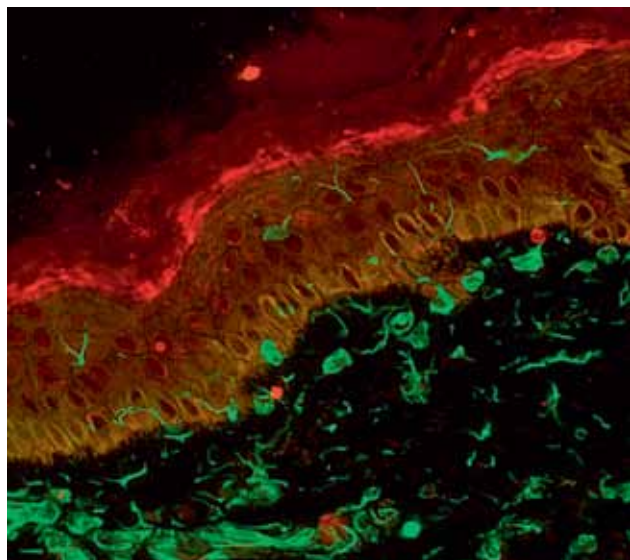


б

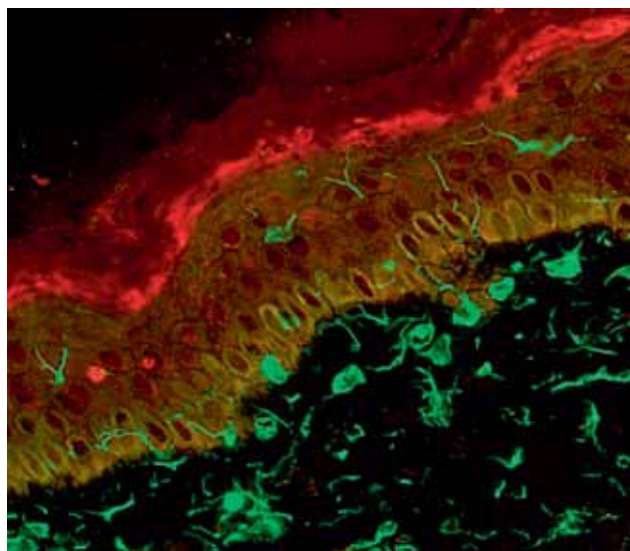


в

Рис. 3. Иммуногистохимия с лангерином в эпидермисе нормальной кожи человека. Определение клеток Лангерганса. Ув. 400: иммунореактивность КОР — зеленое свечение (а); иммунореактивность лангерина — красное свечение (б); двойное положительное окрашивание лангерина и КОР (в)



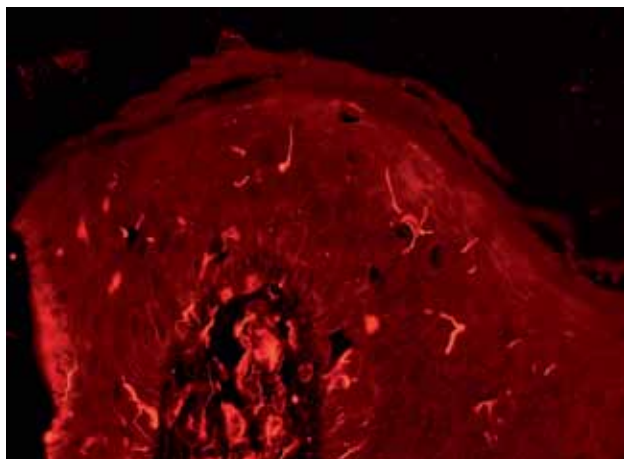
a



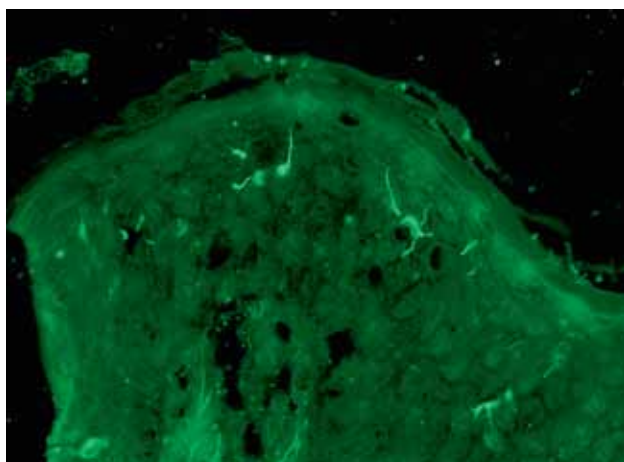
б

Рис. 4. Иммунореактивность KOP (зеленое свечение) и динорфина C-12 (красное свечение); в базальных кератиноцитах выявлена иммунореактивность одновременно и динорфина C-12, и KOP (желтое свечение). Фибробласты в дерме и нервные волокна в эпидермисе выявляют иммунореактивность KOP: ув. 200 (*a*); ув. 400 (*б*)

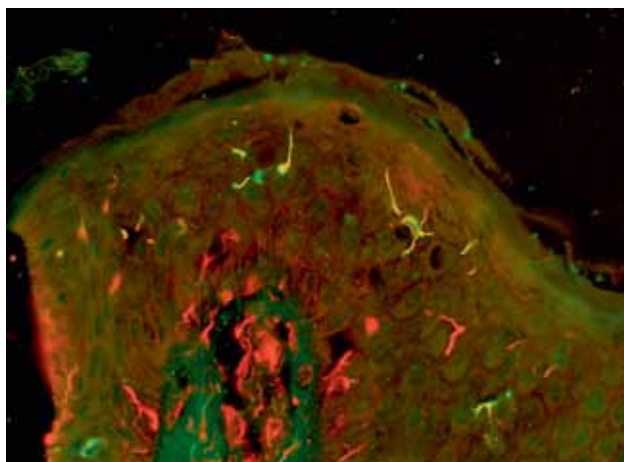
ядрах, в периакведуктальном сером веществе мозга, ядрах одиночного пучка, вентральной области покрышки, мозжечке, новой коре головного мозга и супраспинальных ядрах [30—32] и в задних рогах спинного мозга [33]. Примечательно, что в задних рогах спинного мозга KOP могут быть связаны с канна-



a



б



в

Рис. 5. Иммунореактивность KOP — красное свечение (*a*) и CD 56 — зеленое свечение (*б*); двойное окрашивание с CD 56 и KOP — желтое свечение (*в*)

биоидной системой [34]. Нейроны, экспрессирующие КОР, также расположены у основания дорсальных ганглиев и в ганглиях тройничного нерва [35], которые являются важной связью с периферической нервной системой. На периферии КОР были обнаружены в нервных окончаниях мышц, суставов и внутренних органов [36]. Также предполагается, что КОР играют роль в ноцицепции.

Роль КОР в патогенезе зуда

Системное применение селективного антагониста КОР норбиналторфимина вызывало расчесы у мышей [37]. В отличие от этого было показано, что активацию нейронов зуда в поверхностных слоях дорсальных рогов спинного мозга ингибирует агонист КОР TRK-820 (налфурафин) у мышей [38]. Следовательно, прием внутрь [11, 39] или подкожное применение налфурафина [40, 41] приводит к значительному снижению уровня субстанции P или зуда, вызванного гистамином, у мышей «дикого типа». В дополнение, спонтанное развитие у мышей расчесывающего поведения может быть подавлено налфурафином [11, 39—41]. Количество расчесов снижалось у мышей, модифицированных геном КОР, после индукции сухой кожи по сравнению с мышами «дикого типа» [28]. На модели аутоиммунно-индуцированного зуда прием внутрь налфурафина также подавлял расчесывающее поведение [42]. Налфурамин значительно снижает число эксфолиаций на модели холестатического зуда у крыс [43], при внутривенном введении подавляет расчесы, вызванные системным применением морфина у макаков резусов [44].

Иммунологическая окраска КОР обратно регулируется в эпидермисе у больных atopическим дерматитом и псориазом, сопровождающимся зудом [6, 17]. ПУВА-терапия не приводит к нормализации уровня КОР при atopическом дерматите, но увеличивает в КОР уровень экспрессии лигандов динорфина [6].

Кроме налфурафина, все в настоящее время одобренные для терапевтического применения у людей агонисты КОР — это смешанные КОР агонисты/МОР антагонисты со схожими побочными эффектами различной интенсивности, зависящими от аффинитета к рецепторам. Налфурафин является полным агонистом КОР, частичным агонистом МОР и антагонистом низкого аффинитета к ноцицептивным рецепторам [45]. Буторфанол представляет собой агонист КОР/антагонист МОР с анальгетической активностью, налбуфин и пентазоцин хорошо известны благодаря эффективности купирования приступов острого зуда, вызванных морфином [46—48]. Из всех перечисленных препаратов только буторфанол и налфурафин ранее использовались при хроническом зуде. Исследования по терапевтическому использованию налфурафина при atopическом дерматите проводились на модели животных [39]. В исследовании A. Dawn, G. Yosipovitch (2006) противозудный эффект буторфаноло развивал-

ся в течение 1—4 дней после назального применения в старшей возрастной группе с зудом при первичном билиарном циррозе или неходжкинской лимфоме [50]. Препарат потенциально может быть рекомендован для интраназального применения при холестатическом зуде, однако планомерные клинические исследования не проводились [49].

Экспрессия КОР в кератиноцитах и их патофизиологическая роль

КОР экспрессируются в кератиноцитах кожи, это было показано в нашем исследовании и некоторых других исследованиях [6, 7]. С применением ПЦР в реальном времени, а также иммуногистохимических методов исследования достоверно продемонстрирована экспрессия КОР в нормальной коже человека. В некоторых исследованиях предполагается, что КОР способствуют пролиферации и дифференциации кератиноцитов в коже человека [28]. Во всех участках кожного покрова экспрессия КОР была схожа. Анализ экспрессии КОР показал, что каппа-опиоидная система регулируется по принципу отрицательной обратной связи в эпидермисе пациентов с atopическим дерматитом [6]. Восстановление каппа-опиоидной системы при ПУВА-терапии наблюдалась у пациентов с atopическим дерматитом и сопровождалось снижением интенсивности зуда, оцениваемое с помощью визуально-аналоговой шкалы. Это предполагает связь с модуляцией зуда при atopическом дерматите [6].

Несколько работ описывают преобразование сигнала, вызванное активацией КОР. При соединении с протеином G Gai/o КОР ингибируют аденилатциклазу, увеличивают проведение калия, снижают проведение кальция и мобилизируют внутриклеточный кальций (Tseng R., 1995). КОР, не локализованные в нейронах, вероятно, влияют на цитокиновый спектр кератиноцитов [54]. M. Tomiyama и соавт. предполагают, что эпидермальная опиоидная система вовлечена в модуляцию зуда при atopическом дерматите [6]. Экспрессия КОР значительно повышена в эпидермисе и дерме в зоне гипертрофических рубцов. Это предполагает, что опиоидная система может быть активирована в гипертрофических рубцах, способствуя усилению периферической ноцицепции в зоне гипертрофических рубцов [7]. КОР могут активировать внеклеточные киназы посредством С-изоформы белка киназы как вторичного мессенджера и вызывать снижение чувствительности разных рецепторов, помимо КОР, в клетках нервной системы (Bohn и соавт., 2000, Belcheva и соавт., 2005).

Экспрессия динорфина в эпидермисе и его патофизиологическая роль

В нашем исследовании с помощью иммуногистохимического исследования с антителами к эндогенному опиоиду динорфину C-12 и КОР было выявлено двойное окрашивание КОР и динорфина C-12 в базальных

кератиноцитах. Иммунореактивность динорфина А (1—17) была ограничена базальными (но не супрабазальными) слоями. В противоположность этому иммунореактивность динорфина А (1—8) распределялась по всему эпидермису, но была более выражена в супрабазальных слоях по сравнению с базальным слоем. Эти результаты предполагают, что кератиноциты могут вырабатывать динорфин в коже [6]. Динорфин обладает высоким аффинитетом к КОР (Gilmore, Weiner, 1989; Nock, 1990; Kinouchi, Pasternak, 1991; Konko, Childers, 1993; Bigliardi-Qi, 2000). Вследствие этого распределение динорфина А (1—17) и динорфина А (1—8) в нормальном эпидермисе было исследовано при двойном окрашивании с антителами к кератину 14 и 10 [6].

Лиганды КОР стимулируют миграцию культивированных кератиноцитов человека. Антагонист опиоидных рецепторов налтрексон выражено снижает миграцию кератиноцитов. Опиоидные пептиды могут играть ключевую роль в конечной реэпителизации и тканевой регенерации при заживлении ран [55].

В ранее проводимых исследованиях изучалась интенсивность кровоизлияния в коже крыс и свиней в абдоминальной области в ответ на введение динорфина 1—13 с помощью техники Эванса со сходным результатом по отношению к субстанции Р [56].

В коже крыс динорфин, в отличие от субстанции Р, осуществляет свое действие полностью за счет высвобождения гистамина и 5-гидрокситриптамина в связи с ограничением ответа на фоне мепирамина

и метисергида. Использование перед лечением у крыс капсаицина или тахикининовых антагонистов (спандида) снижает ответ к динорфину, но не полностью ограничивает его, демонстрируя тем самым, что действие пептида не обусловлено первичными нейрогенными механизмами. На фоне применения налоксона ожидаемого снижения ответа не отмечалось, поэтому предполагается, что кровоизлияние в ответ на динорфин обуславливают медиаторы других рецепторов.

Динорфин при высвобождении из сенсорных нервов может играть роль в нейрогенном воспалении [56].

Кроме того, наше и другие [8] исследования показали, что КОР находятся в фибробластах и мононуклеарных клетках нормальной кожи человека, но их роль в настоящее время не выяснена.

Заключение

Таким образом, в настоящее время установлено, что КОР играют роль в патогенезе зуда. Селективное воздействие на них представляет собой потенциально новый и многообещающий подход к терапии хронических зудящих дерматозов. Иммуногистохимически показано, что КОР экспрессируются в кератиноцитах и нервных волокнах кожи человека, а также в дермальных фибробластах и мононуклеарных клетках. Локализуясь в нервных волокнах кожи человека КОР, по-видимому, участвуют в регуляции нейрогенного воспаления и формировании сенсорных ощущений, таких как боль и зуд. ■

Литература

- Satoh M., Minami M. Molecular pharmacology of the opioid receptor. *Pharmacol Ther* 1995; 68: 343—364.
- Zadina J.E., Martin-Schild S., Gerall A.A., Kastin A.J., Hackler L., Ge K.J., et al. Endomorphins: novel endogenous mu-opiate receptor agonists in regions of high mu-opiate receptor density. *Ann NY Acad Sci* 1999; 897: 136—144.
- Stefano G.B., Goumon Y., Caseres F., Cadet P., Frichione G.L., Rialas C. et al. Endogenous morphine. *Trends Neurosci* 2000; 23: 436—442.
- Tseng R.J., Padgett D.A., Dhabhar F.S., Engler H., Sheridan J.F. Stress-induced modulation of NK activity during influenza viral infection: role of glucocorticoids and opioids. *Brain Behav Immun* 2005; 19: 153—164.
- Schwartz T.W., Holst B. Molecular structure of G-protein-coupled receptors. In: Foreman J.C., Johansen T., editors. *Textbook of receptor pharmacology*. New York: CRC Press 2002: 81—110.
- Tominaga M., Ogawa H., Takamori K. Possible roles of epidermal opioid system in pruritus of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 2228—2235.
- Cheng B., Liu H.W., Fu X.B., Sheng Z.Y., Li J.F. Co-existence and upregulation of three types of opioid receptors, mu, delta and kappa, in human hypertrophic scars. *Br. J. Dermatol* 2008; 158: 713—720.
- Salemi S., Aeschlimann A., Reisch N., Jünger A., Gay R.E., Heppner F.L. et al. Detection of kappa and delta opioid receptors in skin — outside the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 1012—1017.
- Phan N.Q., Bernhard J.D., Luger T.A., Ständer S. Antipruritic treatment with systemic μ -opioid receptor antagonists: a review. *J Am Acad Dermatol* 2010; 63: 680—688.
- Pan ZZ. μ -Opposing actions of the kappa-opioid receptor. *Trend Pharmacol Sci* 1998; 19: 94—98.
- Togashi Y., Umeuchi H., Okano K., Ando N., Yoshizawa Y., Honda T. et al. Antipruritic activity of the kappa-opioid receptor agonist, TRK-820. *Eur J Pharmacol* 2002; 435: 259—264.
- Wilkström B., Gellert R., Ladefoged S.D., Danada Y., Akai M., Ide K. et al. Kappa-opioid system in uremic pruritus: multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical studies. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3742—3747.
- Mettang T., Pauli-Magnus C., Alschner D.M. Uraemic pruritus — new perspectives and insights from recent trial. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1558—1563.
- Ikoma A., Steinhoff M., Ständer S., Yosipovitch G., Schmelz M. The neurobiology of itch. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 535—546.
- Kumagai H., Matsukawa S., Utsumi J., Saruta T. Prospects for a novel kappa-opioid receptor agonist, TRK-820, in uremic pruritus. In: Yosipovitch G., editor. *Itch. Basic mechanisms and therapy*. New York, Marcel Dekker, 2004: 279—286.
- Kumagai H., Ebata T., Takamori K., Muramatsu T., Nakamoto H., Syzuki H. Effect of a novel kappa-receptor agonist nalurfafine hydrochloride, on severe itch in 337 haemodialysis patients: a Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1251—1257.
- Taneda K., Tominaga M., Negi O., Tengara S., Kamo A., Ogawa H. et al. Evaluation of epidermal nerve density and opioid receptor levels in psoriatic itch. *Br. J Dermatol* 2011; 165: 277—284.
- Finlay M.J., Chen X., Bardi G., Davey P., Geller E.B., Zhang L., et al. Bi-directional heterologous desensitization between the major HIV-1 co-receptor CXCR4 and the kappa-opioid receptor. *J. Neuroimmunol* 2008; 197: 114—123.
- Stein C., Hassan A.H., Przewlocki R., Gramsch C., Peter K., Herz A. Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5935—9.
- Coggeshall R.E., Zhou S., Carlton S.M. Opioid receptors on peripheral sensory axons. *Brain Res* 1997; 764: 126—32.

21. Kosterlitz H.W., Paterson S.J., Robson L.E. Characterization of the kappa-subtype of the opiate receptor in the guinea-pig brain. *Br. J. Pharmacol* 1981; 73: 939—949.
22. Zukin R.S., Eghbali M., Olive D., Unterwald E.M., Tempel A. Characterisation and visualisation of rat and guinea pig brain kappa opioid receptors: evidence for kappa 1 and kappa-opioid receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4061—4065.
23. Clark J.A., Liu L., Price M., Hersch B., Edelson M., Pasternak G.W. Kappa opiate receptor multiplicity: evidence for two U50, 488-sensitive kappa 1 subtypes and a novel kappa 3 subtype. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 251: 461—468.
24. Rothman R.B., Bykov V., de Costa B.R., Jacobson A.E., Rice K.C., Brady L.S. Interaction of endogenous opioid peptides and other drugs with four kappa opioid binding sites in guinea pig brain. *Peptides* 1990; 11: 311—331.
25. Zhu J., Chen C., Xue J.C., Kunapuli S., DeRiel J.K., Liu-Chen L.Y. Cloning of a human kappa opioid receptor from the brain. *Life Sci* 1995; 56: 201—207.
26. Mansour A., Hoversten M.T., Taylor L.P., Watson S.J., Akil H. The cloned mu, delta and kappa receptors and their endogenous ligands: evidence for two opioid peptide recognition cores. *Brain Res* 1995; 700: 89—98.
27. Simonin F., Gavériaux-Ruff C., Befort K., Matthes H., Lannes B., Micheletti G., et al. Kappa-opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7006—7010.
28. Bigliardi-Qi M., Gavériaux-Ruff C., Pflatz K., Bady P., Baumann T., Ruffli T., et al. Deletion of mu- and kappa-opioid receptors in mice changes epidermal hyper trophy, density of peripheral nerve endings, and itch behavior. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 1479—1488.
29. Svingos A.L., Colago E.E. Kappa-opioid and NMDA glutamate receptors are differentially targeted within rat media prefrontal cortex. *Brain Res* 2002; 946: 262—271.
30. Tempel A., Zukin R.S. Neuroanatomical patterns of mu, delta, and kappa opioid receptors of rat brain as determined by quantitative in vitro autoradiography. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4308—4312.
31. George S.R., Zastawny R.L., /briones-Urbina R., Cheng R., Nhuyen T., Heiber M, et al. Distinct distributions of mu, delta and kappa opioid receptor mRNA in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205: 1438—1444.
32. Mansour A., Fox C.A., Burke S., Meng F., Thompson R.C., Akil H. et al. Delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol* 1994; 350: 412—438.
33. Mansour A., Khachaturian H., Lewis M.E., Akil H., Watson S.J. Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends Neurosci* 1988; 11: 308—314.
34. Okada-Ogawa A., Kurose M., Meng I.D. Attenuation of cannabinoid-induced inhibition of medullary dorsal horn neurons by a kappa-opioid receptor antagonist. *Brain Res* 2010; 1359: 81—89.
35. Stein C., Lang K.J. Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 3—8.
36. Rau K.K., Caudle R.M., Cooper B.Y., Johnson R.D. Diverse immunocytochemical expression of opioid receptors in electrophysiologically defined cells of rat dorsal root ganglia. *J Chem Neuroanat* 2005; 29: 255—264.
37. Kamei J., Nagase H. Norbinaltorphimine, a selective kappa-opioid receptor antagonist, induces an itch-associated response in mice. *Eur J Pharmacol* 2001; 418: 141—145.
38. Inan S., Dun N.J., Cowan A. Nalfurafine prevents 5'-guanidinonaltrindole- and compound 48/80-induced spinal c-foc expression and attenuates 5'-guanidinonaltrindole-elicited scratching behavior in mice. *Neuroscience* 2009; 163: 23—33.
39. Nakao K., Ikeda K., Kurokawa T., Togashi Y., Umeuchi H., Honda T., et al. Effect of TRK-820, a selective kappa-opioid receptor agonist, on scratching behavior in an animal model of atopic dermatitis. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 2008; 28: 75—83.
40. Umeuchi H., Togashi Y., Honda T., Nakao K., Okano K., Tanaka T., et al. Involvement of central mu-opioid system in the scratching behavior in mice, and the suppression of it by activation of kappa-opioid system. *Eur J Pharmacol* 2003; 477: 29—35.
41. Wang Y., Tang K., Inan S., Siebert D., Holzgrave U., Lee D.Y., et al. Comparison of pharmacological activities of free distinct kappa ligands (Salvinorin A, TRK-820 and 3FLB) on kappa-opioid receptors in vitro and their antipruritic and antinociceptive activities in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 220—230.
42. Umeuchi H., Kawashima Y., Aoki C.A., Kurokawa T., Nakao K., Itoh M., et al. Spontaneous scratching behavior in MRL/lpr mice, a possible model for pruritus in autoimmune diseases, and antipruritic activity of a novel kappa-opioid receptor agonist nalfurafine hydrochloride. *Eur J Pharmacol* 2005; 518: 133—139.
43. Inan S., Cowan A. Nalfurafine, a kappa-opioid receptor agonist inhibits scratching behavior secondary to cholestasis induced by chronic ethynylestradiol injections in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85: 39—43.
44. Wakasa Y., Fujiwara A., Umeuchi H., Endoh T., Okano K., Tanaka T. et al. Inhibitory effects of TRK-820 on systemic skin scratching induced by morphine in rhesus monkeys. *Life Sci* 2004; 75: 2947—2957.
45. Seki T., Awamura S., Kimura C., Ide S., Sakano K., Minami M. et al. Pharmacological properties of TRK-820 on cloned mu-, delta- and kappa-opioid receptors and nociceptin receptor. *J Pharmacol* 1999; 376: 159—167.
46. Lawhorn C.D., McNitt J.D., Fibuch E.E., Joyce J.T., Leadley R.J. Jr. Epidural morphine with butorphanol for postoperative analgesia after cesarean delivery. *Anesth Analg* 1991; 72: 53—57.
47. Yeh Y.C., Lin T.F., Lin F.S., Wang Y.P., Lin C.J., Sun W.Z. Combination of opioid agonist and agonist-antagonist: patient-controlled analgesia requirement and adverse events among different-ratio morphine and nalbuphine admixtures for postoperative pain. *Br J Anaesth* 2008; 101: 542—548.
48. Tamdee D., Charuluxananan S., Punjasawasong Y., Tawichasri C., Patumanond J., Sriprajitichai P. A randomized controlled trial of penthazocine versus ondansetron for the treatment of intrathecal morphine-induced pruritus in patients undergoing cesarean delivery. *Anesth Analg* 2009; 109: 1606—1611.
49. Bergasa N.V. Treatment of the Pruritus of cholestasis. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 501—508.
50. Dawn A.G., Yosipovitch G. Butorphanol for treatment of intractable pruritus. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 527—531.
51. Ko M.C., Husbands S.M. Effects of atypical kappa-opioid receptor agonists on intrathecal morphine-induced itch and analgesia in primates. *J Pharmacol Exp Ther* 2009 Jan; 328(1): 193—200.
52. Lee H., Naughton N.N., Woods J.H., Ko M.C. Effects of butorphanol on morphine-induced itch and analgesia in primates. *Anesthesiology* 2007 Sep; 107(3): 478—85.
53. Ko M.C., Lee H., Song M.S., Sobczyk-Kojiro K., Mosberg H.I., Kishioka S., Woods J.H., Naughton N.N. Activation of kappa-opioid receptors inhibits pruritus evoked by subcutaneous or intrathecal administration of morphine in monkeys. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 Apr; 305(1): 173—9.
54. Andoh T., Jagate J., Takeshima H., Kuraishi Y. Intradermal nociception elicits itch-associated responses through leukotriene B (4) in mice. *J. Invest Dermatol* 2004 Jul; 123 (1): 196—201.
55. Bigliardi P.L., Büchner S., Ruffli T., Bigliardi-Qi M. Specific stimulation of migration of human keratinocytes by mu-opioid receptor agonists. *J Recept Signal Transduct Res.* 2002 Feb-Nov; 22 (1—4): 191—9.
56. Chahl L.A., Chahl J.S. Plasma extravasation induced by dynorphin- (1—13) in rat skin. *Eur J Pharmacol* 1986 May 27; 124 (3): 343—7.

об авторах:

С.И. Бобко — аспирант

T. Lotts — к.б.н., научный сотрудник

D. Metze — профессор, зав. отделением дерматологии, гистологии и иммуногистохимии

A.H. Львов — д.м.н., профессор, заместитель директора по научно-клинической работе

S. Ständer — профессор, зав. отделением дерматологии, руководитель компетентного центра по изучению хронического зуда

Работа осуществлена при поддержке стипендии Президента Российской Федерации для обучения за рубежом и Немецкого фонда грантов DGF (STA 11591-1).

This research was conducted under the grant of the President of the Russian Federation for studies abroad and German Research Foundation (DGF) (STA 11591-1).