



Центральные и периферические механизмы мю-опиоидной анальгезии и толерантности

Ю. А. КОЛЕСНИКОВ

Медицинский центр «Мединум», г. Таллинн, Эстония

РЕЗЮМЕ

Цель обзора – анализ фундаментальных и клинических публикаций, найденных в базах данных Pubmed, MedLine, Web of Science. Обсуждаются механизмы регуляции синтеза и транспорта мю-опиоидных рецепторов в первичном афферентном нейроне и молекулярные механизмы, ответственные за модулирование проведения ноцицептивной информации из периферии в спинной мозг. По данным некоторых авторов, периферический компонент может составлять 50–90% от суммарного анальгетического эффекта после системного введения морфина и метадона. Обсуждается также роль гликопротеина-P, транспортной системы гематоэнцефалического барьера в модулировании периферического компонента анальгетического эффекта морфина и синергистического взаимодействия между центральными и периферическими рецепторами. Результаты ряда исследований убедительно указывают на ключевую роль периферических мю-рецепторов в развитии толерантности к анальгетическому эффекту морфина после системного его введения. В механизмы опиоидного привыкания также вовлечены периферические антиопиоидные, проноцицептивные системы – NMDA-рецепторы. Эти же механизмы вовлечены в поддержание гипералгезии и аллодинии периферического генеза. Также обсуждается создание анальгетических препаратов, воздействующих на периферические антиноцицептивные системы, которые открывают многообещающую перспективу в лечении острой и хронической боли.

Ключевые слова: периферические мю-рецепторы, периферическая анальгезия, морфин, метадон, опиоидная толерантность, топикал

Для цитирования: Колесников Ю. А. Центральные и периферические механизмы мю-опиоидной анальгезии и толерантности // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 9-20. DOI: 10.21292/2078-5658-2020-17-1-9-20

Central and peripheral mechanisms of mu-opioid analgesia and tolerance

YU. A. KOLESNIKOV

Medical Center Medicum, Pain Department, Tallinn, Estonia

ABSTRACT

Objective – An analysis of the basic science and clinical publications found in PubMed, Medline, and Web of Science. The search covered modern laboratory and clinical mechanisms of peripheral mu opioid analgesia, the role of peripheral mu receptors in systemic analgesia and the development of tolerance to the analgesic effect of opioids. The review discusses the regulatory mechanisms of synthesis and transport of mu-opioid receptors in the primary afferent neurons and the molecular mechanisms responsible for modulating the conduction of nociceptive information from the periphery to the spinal cord. According to some authors, the peripheral component can account for 50-90% of the total analgesic effect after the systemic administration of morphine and methadone. The review reports on the important role of glycoprotein-P and the blood-brain barrier transport system in modulating the peripheral component of the analgesic effect of morphine as well as the synergistic interaction between central and peripheral mu receptors. The results of the reviewed studies convincingly show the key role of peripheral mu receptors in the development of tolerance to the analgesic effect of morphine after its systemic administration. The mechanisms of opioid tolerance also involve peripheral anti-opioid, pronociceptive systems such as NMDA receptors. It is well known that the same mechanisms are involved in maintaining peripheral hyperalgesia and allodynia. The development of analgesic drugs that act on peripheral antinociceptive systems offers a promising perspective on the possible treatment of acute and chronic pain.

Key words: peripheral mu receptors, peripheral analgesia, morphine, methadone, opioid tolerance, topical

For citations: Kolesnikov Yu.A. Central and peripheral mechanisms of mu-opioid analgesia and tolerance. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2020, Vol. 17, no. 1, P. 9-20. (In Russ.) DOI: 10.21292/2078-5658-2020-17-1-9-20

Локализация мю-опиоидных рецепторов в периферическом афферентном нейроне. Общеизвестно, что болевая реакция генерируется на уровне периферических ноцицепторов (чувствительных нервных окончаний), называемых трансдюсерами, которые локализуются на миелиновых А-дельта- и немиелиновых полимодальных С-волокнах. В результате физического или химического воздействия на эти рецепторы и их последующего возбуждения и начинается процесс передачи ноцицептивной информации в мозг. Начиная с определенной силы раздражения болевой сигнал, благодаря образованию медиаторов и биологически активным веществам (субстанции Р, глутамату, гистамину, брадикинину и другим), вырабатываемым клетками эпидермиса и самими нервными окончаниями, преобразуется в электрический импульс через активацию натриевых и кальциевых каналов в нервных окончаниях [1, 6, 14, 45]. Опиоидные рецепторы также локализуются на периферических окончаниях – на тонкомие-

Localization of mu-opioid receptors in a peripheral afferent neuron. It is well established that a pain response is generated at the level of peripheral nociceptors (sensory nerve endings) called transducers, which are localized on myelinated A delta and unmyelinated polymodal C fibers. As a result of physical or chemical action on these receptors and their subsequent excitation, the transmission of nociceptive information to the brain begins. Beginning with a certain irritation force, a pain signal due to special transmitters-mediators, biologically active substances (substances P, glutamate, histamine, bradykinin, and others), produced by epidermal cells and the nerve endings themselves, are converted into an electrical impulse due to the activation of sodium and calcium channels in the intradermal nerve endings [1, 6, 14, 45]. In return, opioid receptors are also localized at the peripheral nerve endings – on the same thin myelinated A delta, and mainly on unmyelinated intracutaneous C axons, and the corresponding peripheral neurons of dorsal root

линовых А-дельта и в основном на немиелиновых кожных С-сенсорных волокнах и соответствующих периферических нейронах задних ганглий [3, 5, 16, 42]. Иммуногистохимические исследования продемонстрировали, что около 60% немиелинизированных нервных окончаний содержат мю- и дельта-опиоидные рецепторы [8, 53]. За последние 20 лет интенсивных исследований получены результаты, позволяющие иметь довольно четкое понимание того, где точно локализуется и как функционирует мю-опиоидная система в первичном афферентном нейроне. Мю-рецепторы синтезируются в основном в так называемых пептидосодержащих периферических нейронах, и затем они транспортируются вместе с иРНК в центральные аксоны в спинном мозге, где инкорпорируются в пресинаптические мембраны. Также рецепторы транспортируются в периферические нервные окончания кожи [45, 47], где они функционально связаны с $G_{i/o}$ -сигнальной системой [6]. В периферической ткани человека обнаружены мю-опиоидные рецепторы в различных слоях кожи нижних и верхних конечностей, в коже лица. Подтипы мю-опиоидных рецепторов (MOR-1 и MOR-1A) определены на нервных окончаниях больших и средних волокон, содержащих схожий с кальцитонином белок (CGRP) и субстанцию P [43, 44, 46, 48]. В лабораторных экспериментах обнаружены MOR-1-рецепторы на мембране аксонов седалищного нерва крыс, и в электрофизиологических исследованиях продемонстрирована их функциональная активность. Мю-опиоидный пептид DAMGO вызывал дозозависимый и налоксонообратимый эффект в уменьшении высвобождения белка, относящегося к кальцитонину (CGRP), после деполяризации периферического нерва [33].

Таким образом, в первичном афферентном нейроне синтезируются и транспортируются в центральные и периферические аксоны функционально активные мю-опиоидные рецепторы, которые принимают участие в модулировании проведения ноцицептивной информации из периферии в спинной мозг.

Механизмы действия мю-опиоидов. На уровне периферических нейронов и нервных окончаний морфин модулирует активность в основном двух подтипов ванилоидных ($TRPM_3$, $TRPM_1$) рецепторов, расположенных на тех же внутрикожных аксонах, что и мю-рецепторы, и которые возбуждаются при интенсивном (более $50^{\circ}C$) термическом стимулировании кожи [11]. Активация $TRPM$ -рецепторов на нервных окончаниях кожи приводит к высвобождению провоспалительного и проноцицептивного пептида (CGRP) и к увеличению потока Ca^{++} внутрь периферических нейронов и аксонов [11]. Электрофизиологические исследования (patch clamp technique) на периферических нейронах первичной культуры показали, что поток кальция через каналы уже через несколько секунд резко уменьшается после активации мю-опиоидных рецепторов и последующей активации $G_{o/i}$ -сигнальной системы [19, 33].

ganglia (DRG) [3, 5, 16, 42]. Immunohistochemical studies have shown that about 60% of unmyelinated nerve endings contain mu- and delta-opioid receptors [8, 53]. Over the past 20 years of intensive research, results have been obtained that allow a fairly clear understanding of where exactly the mu-opioid system is located in the primary afferent neuron. Mu-opioid receptors are synthesized mainly in the so-called peptide-containing peripheral neurons, and then they are transported together with mRNA to the central axons in the spinal cord where they are incorporated into presynaptic membranes. Mu-opioid receptors are also transported to the peripheral nerve endings of the skin [45, 47], where they are functionally associated with the $G_{i/o}$ signaling system [6]. In human skin, mu-opioid receptors are found in the epidermis of the lower and upper extremities and in the face and the skin. Different subtypes of mu-opioid receptors (MOR-1 and MOR-1A) are detected at the nerve endings of small and medium fibers containing protein similar to calcitonin (CGRP) and substance P [43, 44, 46, 48]. In laboratory experiments, MOR-1 receptors are found on the axon membrane of the sciatic nerve of rats, and their functional activity has been demonstrated in electrophysiological studies. The mu-opioid peptide DAMGO causes a dose-dependent and naloxone reversible effect in decreasing the release of calcitonin-related protein (CGRP) after depolarization of the peripheral nerve [33].

Thus, mu-opioid receptors are synthesized and then transported into the central and peripheral axons in the primary afferent neuron where receptors are involved in modulating conduction of nociceptive information from the periphery to the spinal cord.

Mechanisms of action of mu-opioids. At the level of peripheral neurons and nerve endings, morphine modulates the activity of basically two subtypes of vanilloid ($TRPM_3$, $TRPM_1$) receptors located on the same intradermal axons as mu-opioid receptors. $TRPM_3$ and $TRPM_1$ vanilloid receptors are excited by intense (more than $50^{\circ}C$) thermal stimulation of the skin [11]. Activation of $TRPM$ receptors at the nerve endings of the skin leads to the release of the proinflammatory and pronociceptive peptide, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and to an increase in Ca^{++} flux into the peripheral neurons and axons [11]. Electrophysiological studies (patch clamp technique) on the peripheral neurons of the primary culture have demonstrated that the flow of calcium through the channels decreases sharply in the several seconds after the activation of mu-opioid receptors and subsequent activation of the $G_{o/i}$ signaling system [19, 33]. After the administration of naloxone into the culture, the flow of calcium is restored. In this study, the authors most likely identified and investigated the basic molecular mechanism of the peripheral action of mu-opioid agonists, after their binding to receptors located on the nerve endings of the skin and on the membranes of the peripheral neurons. After systemic (intravenous, intramuscular, subcutaneous, oral) administration of

При введении налоксона в культуру поток кальция восстанавливается. Этими авторами с большой вероятностью идентифицирован и исследован молекулярный механизм периферического действия мю-агонистов после их связывания с рецепторами, находящимися на нервных окончаниях кожи и на мембранах периферических нейронов [33].

После системного (внутривенного, внутримышечного, подкожного, перорального) введения морфина и его аналогов активируются многочисленные мю-опиоидные антиноцицептивные механизмы в центральной и периферической нервной системе (рис.):

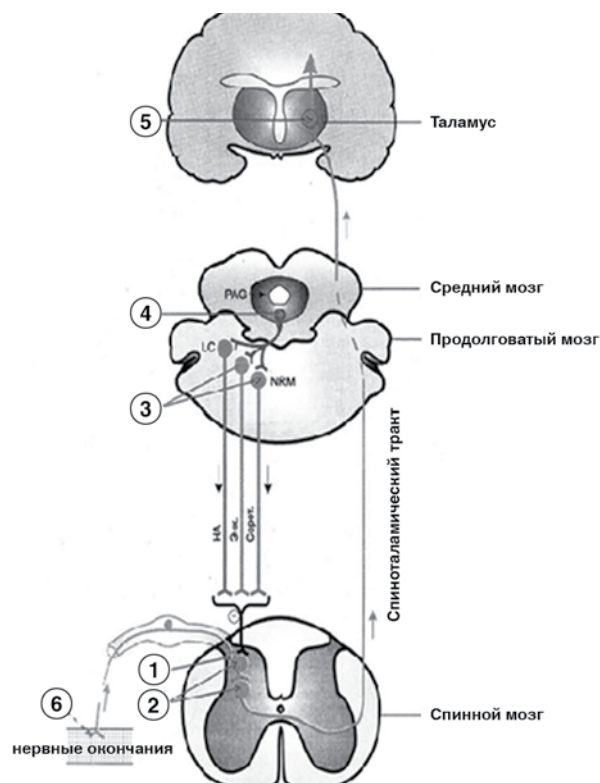


Рис. Центральные и периферические места действия морфина (объяснение в тексте)

- на супраспинальном уровне после связывания лиганда с мю-рецепторами активируются и модулируются нисходящие норадренин- и серотонинсодержащие пути в стволе мозга (места 3, 4 и 5), которые высвобождают норадренин, возбуждают альфа-адренорецепторы интернейронов первого и второго слоев задних рогов спинного мозга, высвобождающие в свою очередь бета-эндорфины и энкефалины, которые, воздействуя на мю-рецепторы вторичных нейронов, вызывают их гиперполяризацию и замедление проведения ноцицептивной информации [38, 50, 54, 56];

- на спинальном уровне активация пресинаптических мю-рецепторов уменьшает поток Ca^{++} в пресинаптические окончания, модулируя высвобождение глутамата и субстанции P, препятствуя тем самым последующей активации нейрокининовых и NMDA-рецепторов – мощной проноцицептивной

morphine and its analogs, numerous mu-opioid anti-nociceptive mechanisms are activated in the central and peripheral nervous system (Fig.):

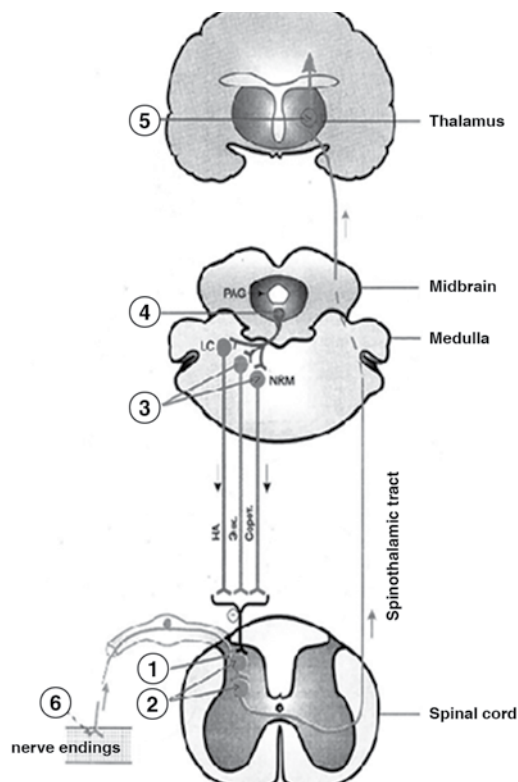


Fig. Central and peripheral sites of the morphine analgesia

- at the supraspinal level, after ligand binding to mu-receptors, the descending norepinephrine and serotonin containing pathways in the brain stem (midbrain and medulla, Fig., sites 3, 4, 5) are activated. This leads to norepinephrine release from locus coeruleus (LC) and nucleus raphe Magnus (NRM) and with subsequent excitation of the α_{2a} adrenergic receptors of interneurons in the first and second layers of the dorsal horns of the spinal cord. In turn, interneurons release beta-endorphins and enkephalins which act on mu-receptors of secondary neurons causing their hyperpolarization and a slowdown of nociceptive information [38, 50, 54, 56];

- at the spinal level, activation of presynaptic mu-receptors reduces the flow of Ca^{++} into the presynaptic terminals modulating the release of glutamate and substance P, thereby preventing the subsequent activation of neurokinin and NMDA-receptors – a powerful pronociceptive system (Fig., sites 1 and 2). Activation of mu-opioid receptors on postsynaptic membranes leads to increased potassium flux and hyperpolarization of projection neurons of the dorsal horns of the spinal cord, and to a slowdown in nociceptive impulses [13, 21, 34, 55];

- at the peripheral level of the nervous system, activation of functional mu-opioid receptors in the nerve endings (Fig., site 6) reduces the intra-axonal calcium flow and, as a result, the depolarization of the membrane

системы (места 1 и 2). Активация постсинаптических мю-рецепторов приводит к увеличению K^+ -потока и гиперполяризации проекционных нейронов задних рогов спинного мозга, а также замедлению проведения ноцицептивной импульсации [13, 21, 34, 55];

– на периферическом уровне нервной системы активация функциональных мю-опиоидных рецепторов в нервных окончаниях (место 6) снижает внутриклеточный поток кальция и, как следствие этого, уменьшаются деполяризация мембраны и высвобождение субстанции P и глутамата на пресинаптическом уровне задних рогов спинного мозга. На уровне нейрона и периферических аксонов уменьшаются высвобождение пептида CGRP из нервных окончаний кожи и внутриклеточный поток кальция [4, 33, 42, 49, 52]. Воздействуя на разные места-мишени, мю-опиоиды, тем самым взаимно и многократно усиливают механизмы модулирования проведения ноцицептивной информации как в афферентном первичном нейроне, так и в центральных структурах.

При анализе всех вышеуказанных механизмов, ответственных за уменьшение болевой импульсации после введения мю-опиоидов, возникает вопрос, а какую долю составляет периферический компонент в суммарном анальгетическом эффекте? Ответить на этот вопрос стало возможно после синтеза периферически действующего антагониста рецепторов: налоксона метиодида [12]. По данным литературы, после системного введения морфина периферический компонент может составлять 50–60% от суммарного анальгетического эффекта. Так, боль у мышей, вызванная внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, полностью блокируется системным введением морфина. Налоксон метиодид, периферически действующий антагонист мю-рецепторов, уменьшал на 57% анальгетический эффект морфина в этой модели боли и на 50% при термическом стимулировании животных, а налоксон уменьшал эффект на 100% в обеих моделях боли [29]. И это не удивительно, ибо образование ноцицептивного импульса, деполяризация мембраны трансдюсера, трансмиссия ноцицептивной информации и ее передача на вторичные нейроны спинного мозга осуществляются первичным афферентным нейроном. Какая часть внутри периферического компонента (афферентного нейрона) более всего ответственна за анальгетический эффект, пока не известно.

В других лабораторных экспериментах накожное (топикал) введение опиоидов вызывало сильную анальгезию при термическом стимулировании кожи животных и сила действия тестируемых опиоидов, их ED_{50} , значительно варьировала. Так, если принять за единицу силу действия морфина (ED_{50} 6,1 ммол), то другие опиоиды, тестируемые в этих экспериментах, демонстрировали большую эффективность: метадон – 1,23 (ED_{50} 5,1 ммол), бупренорфин – 7,5 (ED_{50} 1,1 ммол). После подкожного введения опиоидов мышам их сила действия по

decreases and the release of substance P and glutamate at the presynaptic level of the dorsal horns of the spinal cord decreases. At the level of the neuron and peripheral axons, the release of the CGRP peptide from nerve endings of the skin and the intracellular calcium flow are reduced [4, 33, 42, 52].

Thus, acting on different target sites (Fig.), mu-opioids mutually and repeatedly enhance modulation of nociceptive information in the afferent primary neuron and in the central structures.

When analyzing all of the above mechanisms responsible for the reduction of pain impulses after the administration of systemic of mu-opioids, the question arises, what is the share of the peripheral component in the total analgesic effect? This question can be answered due to synthesizing a peripherally acting receptor antagonist, i.e., naloxone methiodide [12]. According to published data, after systemic administration of morphine, the peripheral component can be 50-60% of the total analgesic effect. So, pain in mice caused by intraperitoneal administration of acetic acid is completely blocked by systemic administration of morphine. Naloxone methiodide, a peripherally acting mu-receptor antagonist, reduced the analgesic effect of morphine in this pain model by 57% and 50% in thermal tail-flick test, and naloxone reduced the effect by 100% in both pain models [29]. This is not surprising since the formation of a nociceptive impulse, depolarization of the transducer membrane, the transmission of nociceptive information to the secondary neurons of the spinal cord are carried out by the primary afferent neuron. It is not fully clear what part inside the peripheral afferent neuron is most responsible for the analgesic effect.

In other laboratory experiments, the topical administration of opioids caused strong analgesia in the thermal tail-flick test, and the potency of the tested opioids varied significantly. So, if we take morphine potency for 1, then other opioids are ranked as follows: methadone – 1.23, buprenorphine – 7.5. After the systemic administration of opioids, their potency of action in relation to morphine has changed: meperidine – 0.1 and buprenorphine – 30 [25, 26, 28]. It is interesting that morphine and methadone demonstrate equal analgesic efficacy regardless of systemic or local administration. As shown in studies by L.He et al. (2009), methadone administered systemically caused analgesia in laboratory animals after the thermal tail-flick test mainly through peripheral mu-opioid receptors. Methadone ED_{50} was comparable to morphine ED_{50} after systemic administration, and the analgesic effect of the drugs completely disappeared after the preliminary administration of naloxone methiodide [18]. However, after intracerebral or intrathecal administration of opioids, methadone did not cause analgesia in either mice or rats, unlike morphine, which showed a powerful analgesic effect [18]. These intriguing data convincingly demonstrate the presence of the sole peripheral component in methadone analgesia after its systemic administration in laboratory animals. Whether there is a

отношению к морфину (ED_{50} 5,4 мг/кг) менялась в основном у бупренорфина (ED_{50} 0,18 мг/кг) и ме-перидина (0,54 мг/кг) [25, 26, 28]. Интересно, что морфин и метадон, в зависимости от системного или локального введения препаратов, демонстрируют равную по силе анальгетическую эффективность. Как было показано в исследованиях L. He et al. (2009), метадон, вводимый системно, вызывал анальгезию у лабораторных животных после термического стимулирования исключительно через периферические мю-опиоидные рецепторы [18]. ED_{50} метадона была сопоставима с ED_{50} морфина после системного введения опиоидов, и обезболивающий эффект препаратов полностью исчезал после предварительного введения налоксона метиодида. После внутривенного или интратекального введения опиоидов метадон не вызывал анальгезии ни у мышей, ни у крыс, в отличие от морфина, который демонстрировал мощный анальгетический эффект. Эти интригующие данные убедительно демонстрируют наличие исключительно периферического компонента в анальгезии метадона после его системного введения у лабораторных животных. Существует ли подобный механизм действия метадона у людей, остается неизвестным.

Морфин вызывает анальгезию, действуя на центральные и периферические мю-рецепторы, которая также регулируется на системном уровне с помощью белкового комплекса Р-гликопротеина (Pgp, ABCB1-белок) – мощной транспортной системы [2, 10]. Белок-транспортёр экспрессируется в эндотелиях гематоэнцефалического барьера и участвует в защите организма от потенциально токсичных препаратов, их метаболитов и экзогенных веществ. Синтез и распределение Pgp ярко выражено в опухолевых тканях, что является одной из причин развития их множественной лекарственной устойчивости [9]. В мозге Pgp синтезируется в огромном количестве в эндотелиях мозговых сосудов и хориоидном сплетении желудочков мозга [9]. Выявлено, что Pgp эффективно удаляет многие синтетические опиоиды и опиоидные пептиды из мозга обратно в системный кровоток [23]. Так, блокада синтеза белка-транспортёра после хронического внутривенного введения антисенса, разрушающего иРНК Pgp, на 90% уменьшает эффлюкс радиоактивного бета-эндорфина и на 60% радиоактивного морфина из мозга в системный кровоток [23]. При оценке анальгезии у этих животных обнаружено резкое снижение эффективности центрально вводимого морфина и эндорфина. Так, ED_{50} морфина после интратекального введения была 2,4 мкг у наивных животных и 28,4 мкг в группе животных с пониженной функцией белка-транспортёра. При системном введении морфина животным с пониженной функцией белка-транспортёра его ED_{50} увеличивалась почти в 5 раз: с 4,6 до 0,99 мг/кг, а продолжительность анальгетического эффекта – в 2 раза. Эти изменения в действии препарата объясняются нарушением функционирования бел-

similar mechanism of action of methadone in humans remains unknown.

Morphine causes analgesic effect by acting on the central and peripheral mu-receptors, and this effect is also modulated at the systemic level by the P-glycoprotein complex (Pgp), a powerful transport system within the central and peripheral nervous systems [2, 10]. The transporter protein is expressed in the endothelium of the blood-brain barrier and is involved in protecting the host from potentially toxic drugs, their metabolites, and exogenous substances. The synthesis and distribution of Pgp are pronounced in cancer cells, which is one of the reasons for the development of their multiple drug resistance [9]. In the brain, Pgp is synthesized in large quantities in the endothelium of the cerebral vessels and the choroid plexus of brain ventricles [9]. P-glycoprotein was found to effectively remove many synthetic opioids and opioid peptides from the brain back into systemic circulation [23]. It was shown in laboratory experiments, that a block of protein synthesis after chronic intracerebral administration of antisense, that destroyed Pgp mRNA, reduced the efflux of radioactive beta-endorphin by 90%, and the efflux of radioactive morphine from the brain into the systemic circulation by 60% [23]. When assessing analgesia in those animals, a sharp decrease in the effectiveness of centrally administered morphine and endorphin was found. So, the ED_{50} of morphine after intracerebral administration was 2.4 µg in naive animals and 28.4 µg in the group of animals with reduced protein-transporter function. Systemic administration of morphine to animals with reduced protein transporter function resulted in a nearly 5-fold increase of the ED_{50} – from 4.6 mg/kg to 0.99 mg/kg, and the duration of the analgesic effect was double [23]. These changes in the action of the drug administered systemically are explained by a disruption in P-glycoprotein functioning, which leads to a wider distribution of morphine inside the central and peripheral nervous systems and, as a consequence, increased analgesic effect and longer duration. Topical administration of naltrexone to the lower third of the tail of naive animals reduced the analgesic effect of morphine by more than 4 times after intracerebral administration of the opioid, and 10 times in animals with the reduced functional activity of Pgp. Topical naltrexone completely blocked the analgesic effect of intracerebrally administered endorphin [23]. These studies have demonstrated the important role of the Pgp transporter in modulating the peripheral component of the morphine analgesic effect and the synergistic interaction between central and peripheral sites. Moreover, as has been demonstrated by some authors, morphine is a strong substrate – inducer of Pgp. Inductors are known to increase the synthesis and activity of the transporter protein, which changes the pharmacokinetics of the administered substrate and reduces the drug effects that usually occur during tolerance development [10, 23].

The role of peripheral inflammation and nerve damage in the functioning of mu-receptors. During

ка-транспортера, что приводило к более широкому распределению морфина (после системного его введения) в центральной и периферической нервной системе и, как следствие этого процесса, к усилению анальгетического эффекта и его продолжительности. Накожное (топикал) введение налтрексона в нижнюю треть хвоста наивных животных понижало анальгетический эффект морфина более чем в 4 раза после интрацеребрального введения опиоида и в 10 раз у животных с пониженной функциональной активностью Pgr. Топикал налтрексон полностью блокировал анальгетический эффект внутримышечно вводимого эндорфина [23]. Эти исследования продемонстрировали важную роль Pgr-транспортера в модулировании периферического компонента анальгетического эффекта морфина и синергического взаимодействия между центральными и периферическими местами. Более того, как было показано некоторыми авторами, морфин является сильным индуктором Pgr. Индукторы, как известно, повышают синтез и активность белка-транспортера, что меняет фармакокинетику применяемых препаратов-субстратов и способствует снижению эффективности проводимого лечения [10, 23].

Роль периферического воспаления и повреждения нерва в функционировании мю-рецепторов. При воспалении синтез мю-опиоидных рецепторов в нейронах задних ганглиев увеличивается, и этот процесс, включая время транспортировки по аксонам, составляет 24–48 ч [40]. В доклинических исследованиях установлено, что повышение синтеза опиоидных рецепторов зависит от продолжительности воспаления. Было показано, что повышение связывания мю-опиоидов с рецепторами в периферических нейронах обусловлено как увеличением числа нейронов, экспрессирующих эти рецепторы, так и увеличением их количества в нейронах; при этом химическое сродство опиоидных агонистов к рецепторам оставалось неизменным [39]. Кроме того, G-белковая связь с опиоидными рецепторами в нейронах усиливается после продолжительного подкожного воспаления [47]. Количество мю-рецепторов на внутрикожных нервных окончаниях также увеличивается во время продолжительного воспаления, что, несомненно, играет роль в усилении эффективности локально вводимых морфина и мю-пептида DAMGO [46]. Эти доклинические доказательства периферических механизмов локальной мю-анальгезии явились основанием для использования этого метода в клинике. В клинических исследованиях установлено, что инъекция 1 мг морфина в коленный сустав после удаления мениска дает выраженный продолжительный анальгетический эффект, сопоставимый с эффектом после введения бупивакаина [22]. При хроническом остеоартрите интраартикулярно вводимый морфин вызывал мощную и продолжительную анальгезию, сопоставимую с дексаметазоном [31, 44].

peripheral inflammation, the synthesis of new mu-opioid receptors in the neurons of the dorsal root ganglia and their axonal transport is increased [40]. Preclinical studies found that increased synthesis of opioid receptors depends on the duration of inflammation. It has also been shown that an increase in binding of mu-opioids to receptors in peripheral neurons is due to both an increase in the number of neurons expressing those receptors and an increase in their number within the neurons; the affinity of opioid agonists for receptors remains unchanged [39]. In addition, the G-protein binding with opioid receptors in neurons is enhanced after prolonged subcutaneous inflammation [47]. The number of mu-receptors in intradermal nerve endings also increases during prolonged inflammation, which undoubtedly plays a role in enhanced effectiveness of locally administered morphine and mu peptide DAMGO [46]. These preclinical data make the basis for this method to be used in clinical trials. And clinical trials demonstrate that the injection of 1 mg of morphine into the knee joint after removal of the meniscus provides a pronounced long-term analgesic effect comparable to the effect of bupivacaine [22]. In chronic osteoarthritis, intraarticularly administered morphine causes powerful and prolonged analgesia comparable to dexamethasone [31, 44].

Most studies of peripheral mechanisms have mainly used models of peripheral inflammation, such as introducing a suspension of inactivated mycobacteria into the peripheral tissues of animals. Mu-opioid analgesics are always effective in the inflammatory model of pain in laboratory animals, compared with neuropathic models where the results of opioid action are contradictory. Numerous laboratory and clinical studies have shown a significant decrease in the analgesic activity of morphine and its analogs in neuropathic pain models. The mechanisms of this phenomenon are not fully understood. Some authors believe that peripheral nerve damage activates the pronociceptive and antinociceptive system (glutamate receptors) in the postsynaptic neurons of the spinal cord [7, 14], and cyclooxygenase 2 (COX-2) in the peripheral and central neurons [32]. Other authors attribute this to the decreased number of mu-opioid receptors in the dorsal horns of the spinal cord and with a disruption in their function [41]. In laboratory studies on neuropathic models, we found that morphine ED₅₀ after systemic, intrathecal, and topical administration of the drug is significantly shifted to the right after damage to the peripheral nerve, i.e., the potency of the analgesic action decreases [27]. As shown in immunohistochemical studies using confocal laser microscopy, an injury of the sciatic nerve leads to a defense reaction in peripheral neurons – their structural rearrangement, and the formation of pathological foci of excitation in the epidermis and in the dorsal horns of the spinal cord which undoubtedly could modulate the effectiveness of morphine analgesia [15]. A question arises: what happens in these neurons and their peripheral intradermal axons with mu-opioid receptors – targets for opioid drugs?

В большинстве исследований, изучающих периферические механизмы, использовались в основном модели периферического воспаления, такие как введение суспензии инактивированных микробактерий в периферические ткани животных. Если при воспалительной модели боли у лабораторных животных мю-опиоидные анальгетики почти всегда эффективны, то при невропатических моделях результаты действия опиоидов противоречивы. Многими лабораторными и клиническими исследованиями показано значительное уменьшение анальгетической активности морфина и его аналогов при невропатической боли. Механизмы этого феномена не до конца изучены. Одни авторы считают, что повреждение периферических нервов активирует проноцицептивную и антиноцицептивную систему (глутаматные рецепторы) в постсинаптических нейронах спинного мозга [7, 14] и циклооксигеназу 2 (ЦОГ-2) в периферических и центральных нейронах [32]. Другие авторы это связывают с уменьшением количества мю-опиоидных рецепторов в задних рогах спинного мозга и с нарушением их функционирования [41]. В лабораторных исследованиях на невропатических моделях нами обнаружено, что ЭД₅₀ морфина после системного, интратекального и накожного (топикал) введения препарата были значительно сдвинуты вправо у животных после повреждения периферического нерва, т. е. сила действия опиоида уменьшалась [27]. Как было показано в иммуногистохимических исследованиях с применением конфокальной лазерной микроскопии, травма седалищного нерва приводила к пластической реакции в периферических нейронах: их структурной перестройке и образованию патологических очагов возбуждения в эпидермисе и в задних рогах спинного мозга, что, несомненно, могло повлиять на эффективность действия морфина [15]. Возникает естественный вопрос, а что происходит в этих нейронах и их периферических внутрикожных аксонах с мю-опиоидными рецепторами – мишенями для опиоидных препаратов?

Вопрос о том, иннервируется ли самый верхний слой кожи или нет, обсуждался не одно десятилетие, в течение которых десятки ученых и анатомов доказывали или отрицали существование болевых нервных волокон в эпидермисе [30]. Только после того, как стали доступны для лабораторных и клинических исследований антитела к продукту белкового гена 9.5 (protein gene product 9.5 – PGP 9.5), который локализуется исключительно в нервной системе, появилась возможность исследовать и нервные волокна кожи [51]. Современные, так называемые двойные иммуногистохимические, исследования и конфокальная лазерная микроскопия позволяют не только с высокой степенью разрешения идентифицировать периферические клетки или нейроны с рецепторами или медиаторами, но и произвести их количественный анализ. Для этих целей в дополнение к антителам к PGP 9.5 использовались селективные антитела к различным сплайс-вариан-

The question of whether epidermis is innervated or not has been discussed for decades [30]. It has become possible to investigate this issue with great detail when antibodies to protein gene product 9.5 (protein gene product 9.5 – PGP 9.5), which was localized in the nervous system only, became available for laboratory and clinical studies [51]. In experiments addition antibodies to PGP 9.5, selective antibodies to various splice variants of mu-receptors, MOR-1, MOR-1C, and MOR-1G were used. It was determined that in peripheral afferent neurons, the proportion of immunoreactive neurons with MOR-1 and MOR-1C slightly increased after sciatic nerve damage compared with the control group, although these changes did not reach a statistically significant difference. Thus, in small and medium-size neurons with a diameter of < 30 μm MOR-1, stained cells accounted for approximately 55% of the total number of counted ganglion neurons. After the injury, the proportion of immunoreactive neurons increased up to 64% [27]. In the skin of the hind paw of the experimental animals, mu-opioid receptors were mainly in the dermis, at the border with the epidermis, and the number of stained intradermal nerve fibers with receptors slightly reduced compared with the control group [27]. Thus, experimental damage of the peripheral nerve led to a compensatory reaction of the mu-opioid system at the level of the dorsal horns of the spinal cord, peripheral neurons, and intradermal endings. A decrease of the mu-receptors in the I and II Rexed layers in the spinal cord was accompanied by their insignificant, compensatory increase in the medium and small neurons of the dorsal root ganglia, and their decrease in the intradermal nerve endings, possibly due to restriction of the axonal transport of the receptors and also due to damaged peripheral endings. These neuroplastic changes led to modulation of the analgesic activity of morphine – the potency of the analgesic effect decreased after systemic, spinal, and local administration of the drug [27].

The role of peripheral mechanisms in opioid tolerance. The question: What level of the nervous system does the development of opioid tolerance primarily occur: supraspinal, spinal, or peripheral? This is important for the development of promising analgesic combinations. Numerous laboratory studies have demonstrated the effectiveness of systemically administered NMDA receptor antagonists to prevent the development of tolerance to the analgesic effect of mu-opioids as well as the effectiveness of MK-801 in blocking tolerance after spinal administration of morphine [20]. The results of our studies convincingly show the key role of peripheral mu and NMDA receptors in the development of tolerance to the analgesic effect of morphine after its systemic administration. Thus, after systemic administration of morphine for 4 days, the ED₅₀ of the drug decreased by 2.3 times, and in other groups of the animals that received morphine systemically after local injection, the ED₅₀ decreased by 19 times. The central sites remained sensitive to morphine, demonstrating no tolerance development at supraspinal and spinal levels

там мю-рецепторов, MOR-1, MOR-1C и MOR-1G. При использовании этих технологий определено, что в периферических афферентных нейронах доля иммунореактивных нейронов с MOR-1 и MOR-1C была немного увеличена после повреждения седалищного нерва по сравнению с контрольной группой, хотя эти различия не достигли статистически значимого различия. Так, в нейронах с диаметром < 30 мкм MOR-1 окрашенные клетки составляли приблизительно 55% от общего числа подсчитанных нейронов ганглия. После травмы доля иммунореактивных нейронов была увеличена до 64% через 22 дня после операции [27]. В коже задней лапки животных опытной группы мю-опиоидные рецепторы находились в основном в дермисе, на границе с эпидермисом, и количество окрашенных внутрикожных нервных волокон с рецепторами незначительно уменьшалось по сравнению с контрольной группой [27].

Таким образом, экспериментальное повреждение периферического нерва приводит к компенсаторной реакции мю-опиоидной системы на уровне задних рогов спинного мозга, периферических нейронов и внутрикожных окончаний. Уменьшение мю-рецепторов в I и во II слоях Рекседа в спинном мозге сопровождалось их незначительным компенсаторным увеличением в средних и маленьких нейронах задних ганглиев и уменьшением на внутрикожных нервных окончаниях, возможно, вследствие ограничения аксонального транспорта рецепторов, а также повреждения периферических окончаний. Эти нейропластические изменения отражались на анальгетической активности морфина – сила действия опиоида уменьшалась после системного, интратекального и локального введения препарата [27].

Роль периферических механизмов в опиоидной толерантности. Вопрос, на каком уровне нервной системы: супраспинальном, спинальном или периферическом, происходит в первую очередь развитие лекарственного привыкания, является важным в контексте разработки перспективных комбинаций препаратов. Многочисленными лабораторными исследованиями продемонстрирована эффективность системно вводимых антагонистов NMDA-рецепторов в предупреждении развития толерантности к анальгетическому эффекту мю-опиоидов, а также МК-801 в блокировании толерантности после спинального введения морфина [20].

Результаты наших исследований убедительно указывают на ключевую роль периферических мю-рецепторов в развитии толерантности к анальгетическому эффекту морфина после системного его введения. Так, после системного введения морфина в течение 4 дней ЭД₅₀ препарата уменьшалась в 2,3 раза, а у других животных, получавших морфин системно, ЭД₅₀ после локальной инъекции снижалась в 19 раз. Центральные места оставались чувствительными к морфину, показывая отсутствие развития толерантности на супраспинальном и спинальном уровне (табл.) [24]. Таким образом, данные

(Table) [24]. Thus, the experimental data showed that chronic, within 5-10 days, subcutaneous (systemic) administration of morphine led to a loss of the analgesic effect, i.e., tolerance, but at the same time, the central sites (spinal and supraspinal) remained sensitive to the opioid demonstrating the important, exclusive role of peripheral mu-receptors in the development of systemic tolerance [24]. Since NMDA receptors were also found on the same cutaneous nerve endings where mu-opioid receptors were located, the significance of peripheral NMDA receptors in the development of tolerance significantly increased after systemic and local administration of morphine [7]. To study the peripheral mechanisms involved in the development of opioid tolerance, we have developed a method for the topical administration of drugs and investigated the role of peripheral NMDA receptors in the expression of tolerance. Combined topical administration of morphine with MK-801 or with ketamine, NMDA receptor antagonists effectively blocked the development of tolerance to the analgesic effect of the opioid. In other experiments, morphine was administered topically for 3 days, and starting from day 4, in addition to morphine, MK-801, or ketamine, was applied topically. In this experimental paradigm, NMDA receptor antagonists gradually restored the sensitivity of peripheral receptors to the analgesic effect of morphine [28]. Interestingly, MK-801 intrathecal injections did not block or slow down the development of tolerance after the chronic topical administration of the opioid, emphasizing the involvement of the sole peripheral anti-opioid system intolerance development [28].

The use of these mechanisms in the creation of pain medications opens up promising prospects in the treatment of acute and chronic pain. For example, Finch and co-authors reported successful administration of topical ketamine gel in 20 patients with neuropathic syndrome – the drug effectively reduced allodynia [17].

Locally administered opioids are used fairly widely in clinical practice in the form of skin ointment, gel, and solutions [35–37]. The results of these pilot clinical trials need confirmation. Now there is a need for more numerous and diverse translational studies aimed to optimize doses in a combination of analgesics.

Conclusion

Thus, peripheral opioid mechanisms play a key role in systemic mu-opioid analgesia as well as in the development of tolerance after systemic administration of opioids. Morphine and other mu-opioids administered systemically activate opioidergic mechanisms at supraspinal, spinal, and peripheral levels, which synergistically supplement and strengthen each other and cause analgesia. Laboratory studies have demonstrated that the peripheral component can make 50-60% of the total analgesic effect after systemic administration of morphine and 90% after systemic administration of methadone. Moreover, peripheral anti-opioid system NMDA-receptors are also involved in opioid toler-

Таблица. Центральные и периферические места развития толерантности к морфину

Введение препарата	ЭД ₅₀ морфина 1-й день	ЭД ₅₀ морфина 5-й день	Сдвиг
Системно, п/к	3,1 (1,6; 4,4) мг/кг	7,2 (4,7; 13,8) мг/кг	2,3
Интрацеребрально	162 (72; 290) нг	160 (105; 232) нг	1,0
Интратекально	305 (153; 501) нг	346 (178; 670) нг	1,1
Локально	4,5 (3,2; 6,4) мкг	86 (49; 146) мкг	19,1

экспериментов показали, что хроническое, в течение 5–10 дней, подкожное (системное) введение морфина приводит к потере анальгетического эффекта, т. е. к толерантности, но при этом центральные места (спинальные и супраспинальные) остаются чувствительными к опиоиду, демонстрируя важную исключительную роль периферических мю-рецепторов в развитии системной толерантности [24]. В связи с тем что NMDA-рецепторы были также обнаружены на тех же кожных нервных окончаниях, где находятся мю-опиоидные рецепторы, значимость периферических NMDA-рецепторов в развитии толерантности после системного и локального введения морфина значительно возрастает [7]. Для исследований периферических механизмов, вовлеченных в развитие лекарственного привыкания, мы разработали технологии кожного введения препаратов и исследовали роль периферических NMDA-рецепторов в экспрессии толерантности. Совместное кожное (топикал) введение морфина с МК-801 или с кетамин, антагонистами NMDA-рецепторов эффективно блокировало развитие толерантности к анальгетическому эффекту опиоида. В других экспериментах морфин вводили топикал в течение 3 дней, затем с 4-го дня в дополнение к морфину вводили кожно МК-801 или кетамин. В этой экспериментальной парадигме антагонисты NMDA-рецептора постепенно восстанавливали чувствительность периферических рецепторов к анальгетическому эффекту морфина.

Интересно, что интратекальные инъекции МК-801 не блокировали и даже не замедляли развития толерантности после хронического кожного (топикал) введения опиоида, подчеркивая вовлеченность в развитие толерантности только периферической антиопиоидной системы [28].

Использование этих механизмов в создании обезболивающих препаратов открывает многообещающие перспективы в лечении острой и хронической боли. Так, Р.М. Finch et al. сообщили об успешном кожном применении у 20 больных с невропатическим синдромом кетамина (гель) – препарат эффективно уменьшал аллодинию [17].

Опиоиды, вводимые локально, достаточно широко применяют в клинике как в виде кожных мазей и гели, так и в виде растворов [35–37]. Результаты этих пилотных клинических исследований нуждаются в подтверждении. На данный момент существует потребность в более многочисленных и разнообразных трансляционных исследованиях,

Table. Central and peripheral sites of the morphine tolerance

Site of action	Morphine ED ₅₀ Day 1	Morphine ED ₅₀ Day 1	Shift
Systemic s.c	3.1(1.6, 4.4) mg/kg	7.2(4.7,13.8) mg/kg	2.3
Supraspinal	162 (72, 290) ng	160 (105, 232) ng	1.0
Spinal	305 (153, 501) ng	346 (178, 670) ng	1.1
Local	4.5 (3.2, 6.4) µg	86 (49, 146) µg	19.1

ance mechanisms. The same mechanisms are involved in maintaining peripheral hyperalgesia and allodynia. The development of analgesic drugs acting on peripheral antinociceptive systems opens up promising prospects in the treatment of acute and chronic pain. The absence of central side effects significantly increases the therapeutic index of peripherally acting drugs, which makes them extremely attractive in the treatment of pain of peripheral origin.

Conflict of Interests. The author state that he has no conflict of interests.

нацеленных на оптимизацию доз в комбинации препаратов.

Заклучение

Итак, периферические опиоидные механизмы играют ключевую роль в системной мю-опиоидной анальгезии, а также в развитии толерантности после системного введения опиоидов. Морфин и другие мю-опиоиды, вводимые системно, активируют опиоидергические механизмы на супраспинальном, спинальном и периферическом уровнях, которые, синергически дополняя и усиливая друг друга, вызывают анальгезию. Периферический компонент может составлять 50–60% от суммарного анальгетического эффекта после системного введения морфина и 90% после системного введения метадона. Более того, в механизмы опиоидного привыкания также вовлечены периферические антиопиоидные системы, NMDA-рецепторы. Эти же механизмы вовлечены в поддержание гиперальгезии и аллодинии периферического генеза. Создание анальгетических препаратов, воздействующих на периферические антиноцицептивные системы, открывает многообещающие перспективы в лечении острой и хронической боли. Отсутствие центральных побочных эффектов значительно увеличивает терапевтический индекс периферически действующих препаратов, что делает их исключительно привлекательным при лечении боли периферического происхождения.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии у него конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Abrahamsen B., Zhao J., Asante C. O. et al. The cell and molecular basis of mechanical, cold, and inflammatory pain // *Science*. – 2008. – Vol. 321. – P. 702–705.
2. Aquilante C. L., Letrent S. P., Pollack G. M. et al. Increased brain P-glycoprotein in morphine tolerant rats // *Life Sci*. – 2000. – Vol. 66, № 4. – P. 47–51.
3. Berg K. A., Patwardhan A. M., Sanchez T. A. et al. Rapid modulation of mu-opioid receptor signaling in primary sensory neurons // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – Vol. 321, № 3. – P. 839–847.
4. Bigliardi-Qi M., Bigliardi P. L., Büchner S. et al. Characterization of mu-opiate receptor in human epidermis and keratinocytes // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 885. – P. 368–371.
5. Carlton S. M., Coggeshall R. E. Immunohistochemical localization of enkephalin in peripheral sensory axons in the rat // *Neurosci. Lett.* – 1997. – Vol. 221, № 2–3. – P. 121–124.
6. Chung M. K., Cho Y. S., Bae Y. C. et al. Peripheral G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels are involved in δ -opioid receptor-mediated anti-hyperalgesia in rat masseter muscle // *Eur. J. Pain*. – 2014. – Vol. 18, № 1. – P. 29 – 33.
7. Coggeshall R. E., Carlton S. M. Ultrastructural analysis of NMDA, AMPA, and kainate receptors on unmyelinated and myelinated axons in the periphery // *J. Comp. Neurol.* – 1998. – Vol. 391, № 1. – P. 78–86.
8. Coggeshall R. E., Zhou S., Carlton S. M. Opioid receptors on peripheral sensory axons // *Brain. Res.* – 1997. – Vol. 764, № 1–2. – P. 126–132.
9. Cordon-Cardo C. Multi drug resistance gene (P-glicoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – Vol. 86. – P. 695–698.
10. Cunningham C. W., Mercer S. L., Hassan H. E. et al. Opioids and efflux transporters. Part 2: P-glycoprotein substrate activity of 3- and 6-substituted morphine analogs // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51, № 7. – P. 2316–2023.
11. Dembla S., Behrendt M., Mohr F. et al. Anti-nociceptive action of peripheral mu-opioid receptors by G-beta-gamma protein-mediated inhibition of TRPM3 channels // *Elife*. – 2017. – Vol. 15, № 6. – P. 1–32.
12. Deviche P. Affinity of naloxone and its quaternary analogue for avian central delta and mu opioid receptors // *Brain. Res.* – 1997. – Vol. 757, № 2. – P. 276–279.
13. Dickenson A. H. Opioid receptors: electrophysiological and neurophysiological approaches // *Acta Anaesthesiol. Belg.* – 1996. – Vol. 47, № 3. – P. 101–104.
14. Doolen S., Blake C. B., Smith B. N. et al. Peripheral nerve injury increases glutamate-evoked calcium mobilization in adult spinal cord neurons // *Mol. Pain*. – 2012. – Vol. 8. – P. 56–59.
15. El Maarouf A., Kolesnikov Y., Pasternak G. et al. Polysialic acid-induced plasticity reduces neuropathic insult to the central nervous system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102, № 32. – P. 1151–1120.
16. Fields H. L., Emson P. C., Leigh B. K. et al. Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres // *Nature*. – 1980. – Vol. 284. – P. 351–353.
17. Finch P. M., Knudsen L., Drummond P. D. Reduction of allodynia in patients with complex regional pain syndrome: A double-blind placebo-controlled trial of topical ketamine // *Pain*. – 2009. – Vol. 146, № 1–2. – P. 18–25.
18. He L., Kim J., Ou C. et al. Methadone antinociception is dependent on peripheral opioid receptors // *J. Pain*. – 2009. – Vol. 10, № 4. – P. 369–379.
19. Heinke B., Gingl E., Sandkühler J. Multiple targets of μ -opioid receptor mediated presynaptic inhibition at primary afferent A δ - and C-fibers // *J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 31. – P. 1313–1322.
20. Inturrisi C. E. The role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in pain and morphine tolerance // *Minerva Anesthesiol.* – 2005. – Vol. 71, № 7–8. – P. 401–403.
21. Johnston I. N., Westbrook R. F. Inhibition of morphine analgesia by LPS: role of opioid and NMDA receptors and spinal glia // *Behav. Brain. Res.* – 2005. – Vol. 156, № 1. – P. 75–83.
22. Kalso E., Smith L., McQuay H. J., et al. No pain, no gain: clinical excellence and scientific rigour lessons learned from IA morphine // *Pain*. – 2002. – Vol. 98, № 3. – P. 269–275.
23. King M., Su W., Chang J. et al. Transport of opioids from the brain to the periphery by P-glycoprotein: peripheral actions of central drugs // *Nat. Neurosci.* – 2001. – Vol. 4, № 3. – P. 268–274.
24. Kolesnikov Y. A., Jain S., Wilson R., Pasternak G. W. Peripheral morphine analgesia: synergy with central sites and a target of morphine tolerance // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1996. – Vol. 279, № 2. – P. 502–506.
1. Abrahamsen B., Zhao J., Asante C. O. et al. The cell and molecular basis of mechanical, cold, and inflammatory pain. *Science*, 2008, vol. 321, pp. 702-705.
2. Aquilante C.L., Letrent S.P., Pollack G.M., Brouwer K.L. Increased brain P-glycoprotein in morphine tolerant rats. *Life Sci.*, 2000, vol. 66, no. 4, pp. 47-51.
3. Berg K.A., Patwardhan A.M., Sanchez T.A. et al. Rapid modulation of mu opioid receptor signaling in primary sensory neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007, vol. 321, no. 3, pp. 839-847.
4. Bigliardi-Qi M., Bigliardi P.L., Büchner S., Ruflü T. Characterization of mu opiate receptor in human epidermis and keratinocytes. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 1999, vol. 885, pp. 368-371.
5. Carlton S.M., Coggeshall R.E. Immunohistochemical localization of enkephalin in peripheral sensory axons in the rat. *Neurosci. Lett.*, 1997, vol. 221, no. 2-3, pp. 121-124.
6. Chung M.K., Cho Y.S., Bae Y.C. et al. Peripheral G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels are involved in δ -opioid receptor-mediated anti-hyperalgesia in rat masseter muscle. *Eur. J. Pain*, 2014, vol. 18, no. 1, pp. 29 - 33.
7. Coggeshall R.E., Carlton S.M. Ultrastructural analysis of NMDA, AMPA, and kainate receptors on unmyelinated and myelinated axons in the periphery. *J. Comp. Neurol.*, 1998, vol. 391, no. 1, pp. 78-86.
8. Coggeshall R.E., Zhou S., Carlton S.M. Opioid receptors on peripheral sensory axons. *Brain Res.*, 1997, vol. 764, no. 1-2, pp. 126-132.
9. Cordon-Cardo C. Multi drug resistance gene (P-glicoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, pp. 695-698.
10. Cunningham C.W., Mercer S.L., Hassan H.E. et al. Opioids and efflux transporters. Part 2: P-glycoprotein substrate activity of 3- and 6-substituted morphine analogs. *J. Med. Chem.*, 2008, vol. 51, no.7, pp. 2316-2023.
11. Dembla S., Behrendt M., Mohr F. et al. Anti-nociceptive action of peripheral mu opioid receptors by G-beta-gamma protein-mediated inhibition of TRPM3 channels. *Elife*, 2017, vol. 15, no. 6, pp. 1-32.
12. Deviche P. Affinity of naloxone and its quaternary analogue for avian central delta and mu opioid receptors. *Brain Res.*, 1997, vol. 757, no. 2, pp. 276-279.
13. Dickenson A.H. Opioid receptors: electrophysiological and neurophysiological approaches. *Acta Anaesthesiol. Belg.*, 1996, vol. 47, no. 3, pp. 101-104.
14. Doolen S., Blake C.B., Smith B.N., Taylor B.K. Peripheral nerve injury increases glutamate-evoked calcium mobilization in adult spinal cord neurons. *Mol. Pain*, 2012, vol. 8, pp. 56-59.
15. El Maarouf A., Kolesnikov Y., Pasternak G., Rutishauser U. Polysialic acid-induced plasticity reduces neuropathic insult to the central nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, no. 32, pp. 1151-1120.
16. Fields H.L., Emson P.C., Leigh B.K. et al. Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres. *Nature*, 1980, vol. 284, pp. 351-353.
17. Finch P.M., Knudsen L., Drummond P.D. Reduction of allodynia in patients with complex regional pain syndrome: A double-blind placebo-controlled trial of topical ketamine. *Pain*, 2009, vol. 146, no. 1-2, pp.18-25.
18. He L., Kim J., Ou C., McFadden W., van Rijn R.M., Whistler J.L. Methadone antinociception is dependent on peripheral opioid receptors. *J. Pain*, 2009, no. 10(4), pp. 369-379.
19. Heinke B., Gingl E., Sandkühler J. Multiple targets of μ -opioid receptor mediated presynaptic inhibition at primary afferent A δ - and C-fibers. *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, pp. 1313-1322.
20. Inturrisi C.E. The role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in pain and morphine tolerance. *Minerva Anesthesiol.*, 2005, vol. 71, no. 7-8, pp. 401-403.
21. Johnston I.N., Westbrook R.F. Inhibition of morphine analgesia by LPS: role of opioid and NMDA receptors and spinal glia. *Behav. Brain Res.*, 2005, vol. 156, no. 1 pp. 75-83.
22. Kalso E., Smith L., McQuay H.J., Andrew Moore R. No pain, no gain: clinical excellence and scientific rigour lessons learned from IA morphine. *Pain*, 2002, vol. 98, no. 3, pp. 269-275.
23. King M., Su W., Chang J. et al. Transport of opioids from the brain to the periphery by P-glycoprotein: peripheral actions of central drugs. *Nat. Neurosci.*, 2001, vol. 4, no. 3, pp. 268-274.
24. Kolesnikov Y.A., Jain S., Wilson R., Pasternak G.W. Peripheral morphine analgesia: synergy with central sites and a target of morphine tolerance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, vol. 279, no. 2, pp. 502-506.

25. Kolesnikov Y. A., Chereshev I., Pasternak G. W. Analgesic synergy between topical lidocaine and topical opioids // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2000. – Vol. 295, № 2. – P. 546–551.
26. Kolesnikov Y. A., Oksman G., Pasternak G. W. Topical methadone and meperidine analgesic synergy in the mouse // *Eur. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 638, № 1–3. – P. 61–64.
27. Kolesnikov Y., El-Maarouf A., Rutishauser U. et al. Reorganization of dorsal root ganglion neurons following chronic sciatic nerve constriction injury: correlation with morphine and lidocaine analgesia // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 568, № 1–3. – P. 124–133.
28. Kolesnikov Y., Pasternak G. W. Topical opioids in mice: analgesia and reversal of tolerance by a topical N-methyl-D-aspartate antagonist // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1999. – Vol. 290, № 1. – P. 247–252.
29. Labuz D., Mousa S. A., Schafer M. et al. Relative contribution of peripheral versus central opioid receptors to antinociception // *Brain. Res.* – 2007. – Vol. 1160. P. 30–38.
30. Lauria G., Lombardi R., Camozzi F. et al. Skin biopsy for the diagnosis of peripheral neuropathy // *Histopathology*. – 2009. – Vol. 54, № 3. – P. 273–285.
31. Likar R., Schäfer M., Paulak F. et al. Intraarticular morphine analgesia in chronic pain patients with osteoarthritis // *Anesth. Analg.* – 1997. – Vol. 84, № 6. – P. 1313–1317.
32. Ma W., Du W., Eisenach J. C. Role for both spinal cord COX-1 and COX-2 in maintenance of mechanical hypersensitivity following peripheral nerve injury // *Brain. Res.* – 2002. – Vol. 937, № 1–2. – P. 94–99.
33. Mambretti E. M., Kistner K., Mayer S. et al. Functional and structural characterization of axonal opioid receptors as targets for analgesia // *Mol. Pain.* – 2016. – Vol. 12. – P. 1–17.
34. Marker C. L., Lujan R., Loh H. H., Wickman K. Spinal G-protein-gated potassium channels contribute in a dose-dependent manner to the analgesic effect of mu- and delta- but not kappa-opioids // *J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 25. – P. 3551–3559.
35. Miyazaki T., Satou S., Ohno T. et al. Topical morphine gel for pain management in head and neck cancer patients // *Auris. Nasus. Larynx*. – 2014. – Vol. 41, № 5. – P. 496–498.
36. Nielsen B. N., Aagaard G., Henneberg S. W. et al. Topical morphine for oral mucositis in children: dose finding and absorption // *J. Pain. Symptom. Manage.* – 2012. – Vol. 44, № 1. – P. 117–123.
37. Paice J. A., Von Roenn J. H., Hudgins J. C. et al. Morphine bioavailability from a topical gel formulation in volunteers // *J. Pain. Symptom. Manage.* – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 314–320.
38. Pavlovic Z. W., Bodnar R. J. Opioid supraspinal analgesic synergy between the amygdala and periaqueductal gray in rats // *Brain. Res.* – 1998. – Vol. 779, № 1–2. – P. 158–169.
39. Pol O., Murtra P., Caracul L. et al. Expression of opioid receptors and c-fos in CB1 knockout mice exposed to neuropathic pain // *Neuropharmacology*. – 2006. – Vol. 50, № 1. – P. 123–132.
40. Puehler W., Zöllner C., Brack A. et al. Rapid upregulation of mu opioid receptor mRNA in dorsal root ganglia in response to peripheral inflammation depends on neuronal conduction // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 129, № 2. – P. 473–479.
41. Rashid M. H., Inoue M., Toda K. et al. Loss of peripheral morphine analgesia contributes to the reduced effectiveness of systemic morphine in neuropathic pain // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 309, № 1. – P. 380–387.
42. Schramm C. L., Honda C. N. Co-administration of δ - and μ -opioid receptor agonists promotes peripheral opioid receptor function // *Pain*. – 2010. – Vol. 151, № 3. – P. 763–770.
43. Ständer S., Gunzer M., Metz D. et al. Localization of mu-opioid receptor 1A on sensory nerve fibers in human skin // *Regul. Pept.* – 2002. – Vol. 110, № 1. – P. 75–83.
44. Stein A., Yassouridis A., Szopko C. et al. Intraarticular morphine versus dexamethasone in chronic arthritis // *Pain*. – 1999. – Vol. 83, № 3. – P. 525–532.
45. Stein C. Peripheral mechanisms of opioid analgesia // *Anesth. Analg.* – 1993. – Vol. 76, № 1. – P. 182–191.
46. Stein C. The control of pain in peripheral tissue by opioids // *N. Engl. J. Med.* – 1995. – Vol. 22, № 25. – P. 1685–1690.
47. Stein C., Hassan A. H., Przewlocki R. et al. Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1990. – Vol. 87, № 15. – P. 5935–5939.
48. Stein C., Schäfer M., Machelska H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids // *Nat. Med.* – 2003. – Vol. 9, № 8. – P. 1003–1008.
25. Kolesnikov Y.A., Chereshev I., Pasternak G.W. Analgesic synergy between topical lidocaine and topical opioids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2000, vol. 295, no. 2, pp. 546–551.
26. Kolesnikov Y.A., Oksman G., Pasternak G.W. Topical methadone and meperidine analgesic synergy in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010, vol. 638, no. 1-3, pp. 61–64.
27. Kolesnikov Y., El-Maarouf A., Rutishauser U., Pasternak G. Reorganization of dorsal root ganglion neurons following chronic sciatic nerve constriction injury: correlation with morphine and lidocaine analgesia. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007, vol. 568, no. 1-3, pp. 124–133.
28. Kolesnikov Y., Pasternak G.W. Topical opioids in mice: analgesia and reversal of tolerance by a topical N-methyl-D-aspartate antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, vol. 290, no. 1, pp. 247–252.
29. Labuz D., Mousa S.A., Schafer M. et al. Relative contribution of peripheral versus central opioid receptors to antinociception. *Brain Res.*, 2007, vol. 1160, pp. 30–38.
30. Lauria G., Lombardi R., Camozzi F., Devigili G. Skin biopsy for the diagnosis of peripheral neuropathy. *Histopathology*, 2009, vol. 54, no. 3, pp. 273–285.
31. Likar R., Schäfer M., Paulak F. et al. Intraarticular morphine analgesia in chronic pain patients with osteoarthritis. *Anesth. Analg.*, 1997, vol. 84, no. 6, pp. 1313–1317.
32. Ma W., Du W., Eisenach J.C. Role for both spinal cord COX-1 and COX-2 in maintenance of mechanical hypersensitivity following peripheral nerve injury. *Brain Res.*, 2002, vol. 937, no. 1-2, pp. 94–99.
33. Mambretti E.M., Kistner K., Mayer S. et al. Functional and structural characterization of axonal opioid receptors as targets for analgesia. *Mol. Pain*, 2016, vol. 12, pp. 1–17.
34. Marker C.L., Lujan R., Loh H.H., Wickman K. Spinal G-protein-gated potassium channels contribute in a dose-dependent manner to the analgesic effect of mu- and delta- but not kappa-opioids. *J. Neurosci.*, 2005, vol. 25, pp. 3551–3559.
35. Miyazaki T., Satou S., Ohno T. et al. Topical morphine gel for pain management in head and neck cancer patients. *Auris Nasus Larynx*, 2014, vol. 41, no. 5, pp. 496–498.
36. Nielsen B.N., Aagaard G., Henneberg S.W. et al. Topical morphine for oral mucositis in children: dose finding and absorption. *J. Pain Symptom Manage.*, 2012, vol. 44, no. 1, pp. 117–123.
37. Paice J.A., Von Roenn J.H., Hudgins J.C. et al. Morphine bioavailability from a topical gel formulation in volunteers. *J. Pain Symptom Manage.*, 2008, vol. 35, no. 3, pp. 314–320.
38. Pavlovic Z.W., Bodnar R.J. Opioid supraspinal analgesic synergy between the amygdala and periaqueductal gray in rats. *Brain Res.*, 1998, vol. 779, no. 1-2, pp. 158–169.
39. Pol O., Murtra P., Caracul L., Valverde O. et al. Expression of opioid receptors and c-fos in CB1 knockout mice exposed to neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 2006, vol. 50, no. 1, pp. 123–132.
40. Puehler W., Zöllner C., Brack A. et al. Rapid upregulation of mu opioid receptor mRNA in dorsal root ganglia in response to peripheral inflammation depends on neuronal conduction. *Neuroscience*, 2004, vol. 129, no. 2, pp. 473–479.
41. Rashid M.H., Inoue M., Toda K., Ueda H. Loss of peripheral morphine analgesia contributes to the reduced effectiveness of systemic morphine in neuropathic pain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2004, vol. 309, no. 1, pp. 380–387.
42. Schramm C.L., Honda C.N. Co-administration of δ - and μ -opioid receptor agonists promotes peripheral opioid receptor function. *Pain*, 2010, vol. 151, no. 3, pp. 763–770.
43. Ständer S., Gunzer M., Metz D. et al. Localization of mu opioid receptor 1A on sensory nerve fibers in human skin. *Regul. Pept.*, 2002, vol. 110, no. 1, pp. 75–83.
44. Stein A., Yassouridis A., Szopko C., Helmke K., Stein C. Intraarticular morphine versus dexamethasone in chronic arthritis. *Pain*, 1999, vol. 83, no. 3, pp. 525–532.
45. Stein C. Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Anesth. Analg.*, 1993, vol. 76, no. 1, pp. 182–191.
46. Stein C. The control of pain in peripheral tissue by opioids. *N. Engl. J. Med.*, 1995, vol. 22, no. 25, pp. 1685–1690.
47. Stein C., Hassan A.H., Przewlocki R. et al. Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, vol. 87, no. 15, pp. 5935–5939.
48. Stein C., Schäfer M., Machelska H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids. *Nat. Med.*, 2003, vol. 9, no. 8, pp. 1003–1008.

49. Truong W., Cheng C., Xu Q. G. et al. Mu opioid receptors and analgesia at the site of a peripheral nerve injury // *Ann. Neurol.* – 2003. – Vol. 53. – P. 366–375.
50. Vanderah T. W., Suenaga N. M., Ossipov M. H. et al. Tonic descending facilitation from the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced abnormal pain and antinociceptive tolerance // *J. Neurosci.* – 2001. – Vol. 21, № 1. – P. 279–286.
51. Wang L., Hilliges M., Jernberg T. et al. Protein gene product 9.5-immunoreactive nerve fibres and cells in human skin // *Cell. Tissue. Res.* – 1990. – Vol. 261, № 1. – P. 25–33.
52. Wenk H. N., Brederson J. D., Honda C. N. Morphine directly inhibits nociceptors in inflamed skin // *J. Neurophysiol.* – 2006. – Vol. 95, № 4. – P. 2083–2097.
53. Wenk H. N., Honda C. N. Immunohistochemical localization of delta opioid receptors in peripheral tissues // *J. Comp. Neurol.* – 1999. – Vol. 408, № 4. – P. 567–579.
54. Willis W. D. Central nervous system mechanisms for pain modulation // *Appl. Neurophysiol.* – 1985. – Vol. 481. – P. 153–165.
55. Yaksh T. L., Rudy T. A. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics // *Science.* – 1976. – Vol. 192. – P. 1357–1358.
56. Zhao Z. Q., Gao Y. J., Sun Y. G. et al. Central serotonergic neurons are differentially required for opioid analgesia but not for morphine tolerance or morphine reward // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – Vol. 104, № 36. – P. 14519–14524.
49. Truong W., Cheng C., Xu Q. G. et al. Mu opioid receptors and analgesia at the site of a peripheral nerve injury. *Ann. Neurol.*, 2003, vol. 53, pp. 366-375.
50. Vanderah T.W., Suenaga N.M., Ossipov M.H. et al. Tonic descending facilitation from the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced abnormal pain and antinociceptive tolerance. *J. Neurosci.*, 2001, vol. 21, no. 1, pp. 279-286.
51. Wang L., Hilliges M., Jernberg T., Wiegleb-Edström D., Johansson O. Protein gene product 9.5-immunoreactive nerve fibres and cells in human skin. *Cell Tissue Res.*, 1990, vol. 261, no. 1, pp. 25-33.
52. Wenk H.N., Brederson J.D., Honda C.N. Morphine directly inhibits nociceptors in inflamed skin. *J. Neurophysiol.*, 2006, vol. 95, no. 4, pp. 2083-2097.
53. Wenk H.N., Honda C.N. Immunohistochemical localization of delta opioid receptors in peripheral tissues. *J. Comp. Neurol.*, 1999, vol. 408, no. 4, pp. 567-579.
54. Willis W.D. Central nervous system mechanisms for pain modulation. *Appl. Neurophysiol.*, 1985, vol. 481, pp. 153-165.
55. Yaksh T.L., Rudy T.A. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science*, 1976, vol. 192, pp. 1357-1358.
56. Zhao Z.Q., Gao Y.J., Sun Y.G. et al. Central serotonergic neurons are differentially required for opioid analgesia but not for morphine tolerance or morphine reward. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, vol. 104, no. 36, pp. 14519-14524.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Колесников Юрий Алексеевич

Медицинский центр «Медикум»,

кандидат медицинских наук,

врач-анестезиолог и альголог.

Пунане 61, Таллинн, Эстония.

Тел.: +372 53663264.

E-mail: juri.kolesnikov@mail.ru (для корреспонденции)

[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0002-6039-29](https://ORCID.ORG/0000-0002-6039-29)

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Yuri A. Kolesnikov

MD PhD – Anaesthesiologist and Pain Management Specialist,

Medical Center Medicum,

Punane Street, 61, 13619, Tallinn, Estonia

Email: juri.kolesnikov@mail.ru

Phone: +372 53663264

Email: juri.kolesnikov@mail.ru (for correspondence)

[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0002-6039-29](https://ORCID.ORG/0000-0002-6039-29)